



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

PERFORMANCE REPRODUTIVA, PRODUTIVA E CARACTERÍSTICAS  
COMPORTAMENTAIS DE VACAS HOLSTEIN-FRÍSLA EM COMPARAÇÃO COM OS  
RESPECTIVOS CRUZAMENTOS COM MONTBÉLIARDE E VERMELHA SUECA

MARTA SOFIA RIBEIRO DE OLIVEIRA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Luís Lopes da Costa

Doutor Rui José Branquinho Bessa

Doutor George Thomas Stilwell

ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

2011

LISBOA

---





UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

PERFORMANCE REPRODUTIVA, PRODUTIVA E CARACTERÍSTICAS  
COMPORTAMENTAIS DE VACAS HOLSTEIN-FRÍSLA EM COMPARAÇÃO COM OS  
RESPECTIVOS CRUZAMENTOS COM MONTBÉLIARDE E VERMELHA SUECA

MARTA SOFIA RIBEIRO DE OLIVEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JURI

Doutor Luís Lopes da Costa

Doutor Rui José Branquinho Bessa

Doutor George Thomas Stilwell

ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

2011

LISBOA

---





## AGRADECIMENTOS

Ao professor George Stilwell pela oportunidade de estágio e apoio constante na realização do presente trabalho.

Ao Sr. Alexandre Arriaga e Cunha pela confiança e disponibilização da sua exploração para o estudo e como parte do estágio curricular.

Ao Sr. Justino e Sra. Aurora pelos conhecimentos práticos transmitidos no Casal de Quintanelas e pela ajuda e confiança no decorrer da investigação. Sem o trabalho e rigor dos elementos da exploração não seria possível realizar esta dissertação.

Ao Sr. Carlos Serra pela disponibilização de informação e referências.

Às cerca de 90 novilhas/ primíparas, mesmo aquelas que não apresentavam vontade em contribuir para as colheitas de sangue.

À Abbott *Diabetes Care*, pela disponibilização do aparelho portátil Precision Xceed ® e respectivas tiras de teste descartáveis.

Ao Dr. Carsten Dammert, Dr. José Alface, Professor Miguel Saraiva Lima, Dr. Dário Guerreiro, Dr. Luís Gomes e Dra. Elsa Grilo pelos conhecimentos transmitidos durante o estágio.

Ao Dr. Telmo Nunes pela preciosa ajuda no tratamento estatístico e sugestões para o tratamento de dados.

Um especial agradecimento à minha mãe, pela educação, apoio e amizade, assim como à minha avó Encarnação, que, apesar de recentemente nos ter deixado, agradeço, em meu nome e dos meus irmãos, a sua contribuição na nossa educação durante a infância e apoio nas decisões de vida.

Ao meu pai, avó Leontina, irmãos, aos meus sobrinhos: Diogo, Jéssica e Simão, aos meus padrinhos e ao nosso velhote “Chipi”, por todo o apoio.

Aos meus tios por terem sido a “família em Lisboa”.

À Cátia e à Carla pelo companheirismo e amizade durante o estágio. Aos meus amigos da FMV, da residência Pedro Nunes, amigos de Seia e da Cabeça. Para não prolongar os agradecimentos, eles sabem de quem falo.



## **Performance reprodutiva, produtiva e características comportamentais de vacas Holstein-Frísia em comparação com os respectivos cruzamentos com Montbéliarde e Vermelha Sueca**

**Resumo:** Nos últimos anos, a evolução tecnológica reprodutiva em conjunto com técnicas de melhoramento e selecção avançadas permitiram a intensificação da produção de bovinos de leite, sendo raça Holstein-Frísia (HF), maioritariamente utilizada neste contexto. Como resultado, a raça HF tem sido sujeita a uma pressão de selecção elevado e a um aumento do coeficiente de consanguinidade. A depressão consanguínea crescente, o declínio da fertilidade e outras características funcionais, levaram à implementação de tecnologias de melhoramento genético mais sustentáveis. O cruzamento entre raças (*Crossbreeding*) tem sido apontado como uma das formas de aumentar a sustentabilidade em termos de saúde, fertilidade e longevidade, sendo a heterose umas das formas de atenuar os efeitos da depressão consanguínea. O objectivo deste trabalho foi realizar um estudo comparativo de 30 fêmeas primíparas puras (HF) e fêmeas primíparas cruzadas, 32 Montbéliard x HF (MBxHF) e 28 Vermelha Sueca x HF (VSxHF) tendo em conta a performance reprodutiva, produtiva, incidência de doenças e características comportamentais. Em termos de performance reprodutiva (índices de fertilidade, incidência de distócia e nados mortos na descendência, incidência de doença reprodutiva no pós-parto) e performance produtiva as raças cruzadas não diferiram em relação à raça pura. As principais diferenças encontradas nos grupos genéticos foram a maior concentração de corpos cetónicos sanguíneos nas vacas puras HF relativamente às vacas MBxHF e maior incidência de mastite clínica no grupo VSxHF.

O temperamento e adaptação à ordenha foi mais difícil nos indivíduos MBxHF do que na raça pura, sendo os indivíduos VSxHF os menos temperamentais em termos de resposta às alterações de manejo.

Estes dados reflectem apenas uma fase inicial da vida produtiva nos bovinos de leite, não sendo suficiente para uma comparação da performance geral resultante da heterose.

No entanto, tendo em conta a necessidade de interpretação do temperamento na selecção genética, esta foi a fase ideal para estudar o temperamento na ordenha em diferentes raças, pois os primeiros dias de lactação são os mais propícios ao desenvolvimento de perturbações comportamentais a ambientes não familiares.

**Palavras chave:** Montbéliarde, Vermelha Sueca, Cruzamentos, Heterose, Holstein-Frísia, vacas de leite.



**Reproductive and productive performance, and behavioral characteristics of  
purebred Holstein-Friesian compared with their crossbreds  
with Montbeliarde and Swedish Red**

**Abstract:** During the last decades, developments in reproductive technologies together with advanced breeding and selection programs, led to the intensification of production of dairy cows and Holstein-Friesian (HF) is the breed mainly used in this context. As a result, HF has been subjected to a high selection pressure, leading to an increase in inbreeding coefficient.

The increase in inbreeding depression, the decline in fertility and other functional characteristics, led to the implementation of more sustainable breeding technologies.

Crossbreeding has been suggested as a way to increase sustainability of health, fertility and longevity in dairy cows and it is known that heterosis can reduce the effects of inbreeding depression. The aims of this study were to determine differences between 30 pure Holsteins and crossbreds of 32 Montbeliarde x HF and 28 Swedish Red x HF during first lactation for reproductive and productive performance, disease incidence in post-partum period and behavioral traits.

Pure Holsteins were not different from both crossbreds' cows for fertility rates, incidence of dystocia and stillbirth, incidence of postpartum diseases, and productive traits.

The main differences found were: high levels of blood ketone-bodies in purebred HF than in crossbreds Montbeliard x HF and higher incidence of clinical mastitis in crossbred Swedish Red x HF. The behavior at milking was more difficult in crossbreds MBxHF. Cross-breds VSxHF were less temperamental than the other two genetic groups.

These data reflect the early stage of a productive life in dairy cows, but is not enough for a comparison of the overall performance resulting from heterosis.

However, taking into regard the need for interpretation of behavior in genetic selection, this is a small study that may help identify the differences and potential problems of crossbreeds.

**Keywords:** Montbeliarde, Swedish Red, Crossbreeding, Heterosis, Holstein-Friesian, dairy cow

# Índice Geral

Agradecimentos	i
Resumo	i
Abstract	ii
Índice Geral	iii
Índice de Figuras	v
Índice de gráficos	vii
Lista de abreviaturas	vii
I. INTRODUÇÃO	1
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
1. Melhoramento genético em explorações de bovinos de leite	3
1.1. Objectivos e conceitos gerais em melhoramento genético	3
1.1.1. Heritabilidade	4
1.1.2. Correlação genética e fenotípica entre dois caracteres	4
1.1.3. Repetibilidade	5
2. Holsteinização – Processo de selecção direccionado ao melhoramento genético da raça Holstein-Frísia	5
2.1. Contextualização da selecção genética	5
2.2. História da Raça Holstein-Frísia	5
2.3. Evolução da tecnologia reprodutiva e distribuição mundial da raça	6
2.4. Características morfo-fisiológicas da raça Holstein-Frísia	9
2.5. Holsteinização e pressão de selecção	10
2.6. Consanguinidade na população Holstein-Frísia	12
2.7. Doenças autossómicas recessivas em bovinos Holstein	15
3. Melhoramento Genético Sustentável	16
3.1. Cruzamentos entre raças – <i>Crossbreeding</i>	16
3.2. Raça Montbéliarde	20
3.3. Raça Vermelha Sueca	22
4. Abordagem comparativa com base na performance reprodutiva	24
4.1. Fertilidade	24
4.2. Distócia e mortalidade peri-natal da descendência	25
5. Abordagem comparativa com base na incidência de doenças do período pós-parto	27
5.1. Ambiente uterino – involução uterina no pós-parto	27
5.2. Disfunção ovárica	28
5.3. Doenças metabólicas no período pós-parto.	28

5.4. Mastite e contagem de células somáticas	29
6. Abordagem comparativa com base nos parâmetros de produção	30
6.1. Produção	30
6.2. Gordura e proteína	31
7. Abordagem comparativa - relação animal-homem e temperamento entre os diferentes grupos genéticos	31
7.1. Distância de Fuga	32
7.2. Temperamento e resposta ao stress na ordenha (anexo)	33
III – ESTUDO DE CASO – Performance reprodutiva, produtiva e características comportamentais de vacas Holstein-Frísia em comparação com os respectivos cruzamentos com Montbéliarde e Vermelha Sueca.	37
1. Objectivos	37
2. Descrição da exploração em estudo	37
3. Animais em estudo	38
4. Desenho experimental	40
4.1. Índices de fertilidade	40
4.2. Distócia	41
4.3. Nados-mortos	42
4.4. Doenças pós-parto	42
4.5. Mastite e contagem de células somáticas	43
4.6. Parâmetros Produtivos	43
4.7. Relação animal-homem	44
4.7.1. Distância de fuga	44
4.7.2. Temperamento e resposta ao stress na ordenha	45
4.8. Registo e tratamento de dados	45
5. Resultados	46
5.1. Performance Reprodutiva	46
5.1.1. Índices de fertilidade	46
5.1.2. Distócia e nados-mortos	48
5.1.3. Doenças reprodutivas no período pós-parto e cetose sub-clínica	49
5.2. Mastite e Contagem de células somáticas	50
5.3. Produção	51
5.4. Relação animal homem	52
5.4.1. Distância de fuga	52
5.4.2. Temperamento e adaptação à ordenha	52

6. Discussão dos resultados	54
6.1. Performance Reprodutiva	54
6.1.1. Índices de fertilidade	55
6.1.2. Distócia e nados mortos	56
6.2 Doenças no período pós-parto	57
6.2.1. Doenças reprodutivas no período pós-parto (DRPP)	57
6.2.2. Doenças metabólicas	57
6.2.3. Mastite e Contagem de células somáticas	58
6.3. Produção total e parâmetros de qualidade de leite	58
6.4. Relação animal-homem	59
6.4.1. Distância de Fuga	59
6.4.2. Temperamento e resposta ao stress na ordenha	59
7. Conclusão	60
IV – BIBLIOGRAFIA	61
V – ANEXOS	69

## Índice de Figuras

Figura 1: Transferência de embriões em Bovinos	7
Figura 2. Esquema - relação elevada produção de leite e bem-estar.	11
Figura 3. Cruzamento rotacional entre Holstein-Frísia, Montbéliarde e Vermelha Sueca	20
Figura 4. Fêmea bovina Montbéliarde.	21
Figura 5. Fêmea bovina Vermelha Sueca.	23
Figura 6. Esquema de regulação neuro-endócrina do mecanismo de ejeção de leite.	34
Figura 7. Esquema inicial de cruzamentos na exploração em estudo.	38
Figura 8. Novilha Montbéliard x Holstein-Frísia	40
Figura 9. Novilhas Vermelha Sueca x Holstein-Frísia. Esquerda - pelagem vermelha, direita pelagem preta	40
Figura 10. Realização do doseamento rápido do Betahidroxibutirato no sangue com o aparelho Precision Xceed®	43
Figura 11. Realização do teste de distância de fuga na manjedoura.	44
Figura 12. Sala de ordenha - Casal de Quintanelas	70

## Índice de tabelas

Tabela 1. Descrição sumária das actividades decorridas e casos observados durante o estágio curricular	2
Tabela 2: Heritabilidades para diversas características relacionadas com a produção de bovinos de leite. (Adaptado de Gama, 2002).	4
Tabela 3: Mecanismo de estabelecimento de consanguinidade no caso de auto-fecundação (adaptado de Gama, 2002).	13
Tabela 4: Relação Heritabilidade, Heterose e Consanguinidade para diferentes caracteres (Adaptado de Gama, 2002).	17
Tabela 5: Evolução dos níveis de heterose retida ao longo das gerações, com a utilização de 2, 3 ou 4 raças em sistemas rotacionais (Adaptado de Hansen, 2006b).	19
Tabela 6: Parâmetros produtivos na raça HF e respectivos cruzamentos com raças francesas e nórdicas. (Heins et al., 2006c).	31
Tabela 7. Esquema de inseminações das novilhas em estudo (1º ciclo reprodutivo).	39
Tabela 8 – Média ( $\chi$ ) e desvio padrão ( $\sigma$ ) - Idade à primeira IA (meses), idade ao primeiro parto (meses) e intervalo 1ª IA – IA fecundante	46

Tabela 9 – Média ( $\chi$ ) e desvio padrão ( $\sigma$ )- Período Voluntário de Espera, dias abertos e intervalo entre partos - 2º ciclo reprodutivo	47
Tabela 10. Distócia grau 2 e grau 3 (%) e nados-mortos (%): influência de genótipo paterno e materno	48
Tabela 11. Incidência de cetose sub-clínica (Betahidroxibutirato > 1,4 mmol/l)	50
Tabela 12. Percentagem (%) de mastites clínicas.	50
Tabela 13. Média ( $\chi$ ) e desvio padrão ( $\sigma$ ): produção total ao D100, % de gordura e % de proteína; valores de p mínimos obtidos.	51
Tabela 15. Classificação genética touro "Alliance"	69
Tabela 16. Tabela de avaliação de comportamental na ordenha	70
<b>Índice de gráficos</b>	
Gráfico 1. Evolução da Produção (kg/vaca/ano) ao longo dos anos, nos bovinos da raça Holstein Sueca e Vermelha Sueca (Suécia)	23
Gráfico 2. Evolução do intervalo entre partos (meses) ao longo dos anos, na população Holstein-Frísia	25
Gráfico 3. Distribuição dos partos ao longo dos meses das vacas primíparas Holstein-Frísia, Montbéliarde x Holstein-Frísia e Vermelha Sueca x Holstein Frísia	39
Gráfico 4- Índice de concepção ao primeiro serviço e Índice de concepção global para o primeiro e segundo ciclo reprodutivo (%) nos diferentes grupos genéticos; valor mínimo de p entre as comparações	47
Gráfico 5. Percentagem (%) de casos de metrite e Retenção placentária.	49
Gráfico 6. Boxplot - Corpos cetônicos sanguíneos (mmol/l) nos diferentes grupos	49
Gráfico 7 . Distribuição da Contagem de células somáticas na raça pura Holstein-Frísia e respectivos híbridos Montbéliarde x Holstein e Vermelha Sueca x Holstein-Frísia	51
Gráfico 8. Boxplot - Produção total aos 100 dias de lactação, valor mínimo de p obtido entre comparações.	51
Gráfico 9. Relação animal-homem - Distância de fuga nos diferentes grupos	52
Gráfico 10. Boxplot patadas por minuto nas diferentes raças - Ordenha D4	52
Gráfico 11. Boxplot passos por minuto nas diferentes raças - ordenha D4	53
Gráfico 12. Boxplot: patadas por minuto nas diferentes raças - ordenha D100	53
Gráfico 13. Boxplot passos por minuto nas diferentes raças - Ordenha D100	54

## LISTA DE ABREVIATURAS

1C – 1º Ciclo reprodutivo

2C - 2º Ciclo reprodutivo

ACPRF – Associação Portuguesa de Criadores de Raça Frísia

BC - Citrulinémia Bovina

BEN – Balanço Energético Negativo

BHBA – Betahidroxibutirato

BLAD – Deficiência de Adesão Leucocitária em Bovinos

CCS – Contagem de Células Somáticas

CVM – Complexo de Anomalias Vertebrais

DUMPS - Deficiência Enzimática em Uridina Monofosfato

Dx – Dia x de lactação

EFSA – European Food Safety Authority

FXID – Deficiência no Factor XI da Cascata de Coagulação

$h^2$  – Heritabilidade

HAUSA – Holstein Association United States of America

HF – Holstein Frísia

IA – Inseminação Artificial

ICG – Índice de Concepção Global

ICI – Índice de Concepção Individual

ICPS – Índice Concepção Primeiro Serviço

IEP – Intervalo Entre Partos

IFV – *In Vitro Fertilization*

MB – Montbéliarde

MBxHF – híbrido Montbéliarde x Holstein Frísia

NEFAS - Ácidos Gordos Livres Não-Esterificados

OSM – Organisme de Selection Montbéliard

PVE – Período Voluntário de Espera

TCM – Teste Californiano de Mastites

TE – Transferência de Embriões

VS – Vermelha Sueca

VSxHF – híbrido Vermelha Sueca x Holstein Frísia

## I. INTRODUÇÃO

A presente dissertação é resultado do trabalho de investigação realizado durante o estágio curricular, correspondente ao sexto e último ano do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária que decorreu desde 16 de Setembro de 2010 a 01 de Março de 2011.

As actividades do estágio curricular dividiram-se em dois grupos, durante este mesmo período: aprendizagem prática numa exploração de bovinos de leite e acompanhamento de vários clínicos veterinários de espécies pecuárias.

A respectiva exploração localiza-se na freguesia do Sabugo, concelho de Sintra e iniciou recentemente um programa de *crossbreeding* em 2007, com touros das raças Montbéliarde e Vermelha Sueca, sendo os seus animais utilizados como exemplo de um estudo comparativo entre novilhas puras da raça Holstein-Frísia e as respectivas novilhas cruzadas.

Na respectiva exploração, tive a oportunidade de contactar com mais intensidade a rotina de funcionamento de uma exploração de leite.

Os dias que frequentei essa exploração foi uma mais-valia na aquisição de conhecimentos práticos referentes ao manejo, reprodução e clínica, assim como para a recolha de informações para a dissertação. O manejo da exploração era mediado por dois tratadores. A clínica e reprodução eram da responsabilidade do médico veterinário da exploração Dr. Carsten Dammert.

Segue-se um resumo das actividades ocorridas na exploração, por ordem decrescente de maior frequência de execução:

- Monitorização e tratamento de animais nos primeiros dias pós-parto, animais com mastite clínica e vacas no início de período de secagem.
- Realização de palpções rectais e visualização de ecografias trans-rectais
- Corte funcional de cascos
- Administração de colostro a vitelos recém-nascidos por entubação esofágica
- Vacinações e desparasitações
- Assistência a partos
- Descorna de vitelos
- Cirurgias: Cesariana, Sutura de Caslick, Sutura de Goetze

A monitorização dos animais nos primeiros dias pós-parto consistia no registo de temperatura rectal nos primeiros 2 a 3 dias, assim como tratamentos efectuados e respectivos intervalos de segurança. Nas vacas com mastite clínica, além dos registos de tratamentos efectuados, realizava-se a avaliação do aspecto do leite aos primeiros jactos, Teste Californiano de



Mastites (TCM) e atribuição de pontuação relativa a gravidade da mastite.

Para a recolha de dados, as actividades mais importantes do ponto de vista prático foram as colheitas de sangue para os testes rápidos de corpos cetónicos e a observação dos procedimentos da ordenha para a avaliação comportamental.

### Acompanhamento de Médicos Veterinários de espécies pecuárias

Durante o estágio acompanhei vários clínicos de espécies pecuárias, entre eles o respectivo orientador, Professor Doutor George Stilwell, com o qual exerci a maioria das actividades. Os restantes médicos veterinários, Dr. José Alface, Dr. Dário Guerreiro, Dra. Elsa Grillo e Dr. Luís Gomes. A espécie com mais casuística foi a espécie bovina. A Tabela 1 representa um resumo das actividades realizadas nas diferentes espécies.

Tabela 1. Descrição sumária das actividades decorridas e casos observados durante o estágio curricular

	<b>Bovinos</b>	
<b>Clínica</b>	Hipocalcémia Indigestão Doença Respiratória Diarreia (vitelos, vacas) Cetose clínica Mastite clínica	Hiperqueratose da ponta dos tetos <i>Teat pea</i> Patologia podal - Corte funcional de cascos - Úlcera da sola - Panarício
<b>Cirurgia</b>	Deslocamentos de abomaso (esq. e direita) Cesariana	Sutura de Goetze Sutura de Caslick Resolução de fístula recto-vaginal
<b>Reprodução e Obstetrícia</b>	Palpação trans-rectal - Diagnósticos de gestação - Diagnósticos pós-parto - Quistos foliculares - Endometrite Observação de ecografias - Diagnósticos de gestação	Sincronizações reprodutivas Distócias Prolapso uterino Metrite Retenção placentária Prolapso Vaginal Torção uterina
<b>Sanidade Animal</b>	Vacinações Desparasitações	Tuberculinizações Colheitas de sangue - Rastreio Brucelose
	<b>Pequenos Ruminantes</b>	
<b>Geral</b>	Peeira Colheitas de sangue – Rastreio Brucelose	Vacinações Desparasitações
	<b>Suínos</b>	
<b>Geral</b>	Mastite Metrite Agaláxia Diarreia em leitões	Vacinação – Doença de Aujeszky

## **II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **1. Melhoramento genético em explorações de bovinos de leite**

Em muitos países Europeus, a produção de leite por vaca mais que duplicou nos últimos 40 anos (Oltenu & Algers, 2005), de forma a responder às necessidades crescentes de mercado (European Food Safety Authority [EFSA], 2009).

Até aos anos 80, assistiu-se a um progresso no manejo, principalmente no que diz respeito à aplicação dos padrões nutricionais, de modo a acompanhar os aumentos graduais de produção (Oltenu & Algers, 2005).

A partir desta data, os factores principais envolvidos na intensificação de produção nas explorações, foram a implementação de medidas de melhoramento genético no sentido de aumentar a produção de leite por vaca e a implementação de tecnologias reprodutivas de modo a melhorar a eficiência da selecção e redução gradual dos custos de produção (EFSA, 2009).

#### **1.1. Objectivos e conceitos gerais em melhoramento genético**

A manutenção do número de animais de uma exploração de bovinos de leite está dependente de uma rotina de substituições efectuadas pelo próprio produtor, segundo critérios técnicos que permitem orientar os resultados da exploração para os objectivos de produção (Nunes, 2004). O objectivo principal é introduzir novilhas que garantam um bom desempenho no efectivo produtor, recorrendo a técnicas de melhoramento animal, isto é, uma combinação do melhor material genético da exploração (fêmeas) com a componente externa da exploração, o sêmen (Nunes, 2004).

O melhoramento animal em explorações de bovinos têm vindo a desenvolver-se de forma rápida. Inicialmente, baseava-se em selecção fenotípica simples com recurso a poucos dados. (Sorensen, Norberg, Pedersen & Christensen, 2008). Os avanços significativos ocorreram cerca dos anos 50, com a genética quantitativa baseada em princípios de heritabilidade, métodos estatísticos especializados (Oltenu & Broom, 2010) e bases de dados mais completas (Sorensen et al., 2008). Estes dados, em combinação com esquemas baseados em testes de progenia, aumentaram o ganho genético geração pós-geração em larga escala (Sorensen et al., 2008). A selecção genética nas explorações de bovinos de leite é fundamentada por diversos critérios, estimativas e índices de selecção (EFSA, 2009). Para prever as respostas à selecção é fundamental ter em conta as estimativas dos seguintes parâmetros genéticos: heritabilidade, repetibilidade e correlações genéticas e fenotípicas (Rao & Bhatia, 1992).

### 1.1.1. Heritabilidade

O melhoramento genético destinado à produção de leite é complexo. Este deve considerar a componente genética e a componente ambiental, pois estes dois factores contribuem para a variação dos resultados da respectiva exploração (Wilcox, Webb & DeLorenza, 1992).

No entanto, existe sempre uma proporção de cada característica transmissível à geração seguinte que não está dependente do factor ambiente, mas é determinada essencialmente por factores genéticos (Wilcox et al., 1992). Uma das formas de avaliar quantitativamente o determinismo genético de uma característica é avaliar a sua heritabilidade ( $h^2$ ). (Nunes, 2004). No que diz respeito à actividade de produção de leite, segue-se uma tabela (Tabela 2), com as estimativas da heritabilidade para diversos caracteres na actividade de produção de leite.

Tabela 2: Heritabilidades para diversas características relacionadas com a produção de bovinos de leite. (Adaptado de Gama, 2002).

Grupo	Característica	$h^2$	Grupo	Característica	$h^2$
<b>Produtivos</b>	Produção de leite	0,25-0,30	<b>Reprodução</b>	Índice de concepção	0,05
	Proteína total	0,25-0,30		Facilidade de Parto	0,08
	Gordura total	0,25-0,30	<b>Outros</b>	Velocidade de ordenha	0,2
	Teor de gordura	0,45-0,50		Longevidade	0,1
	Teor proteico	0,45-0,50		Resistência a mastites	0,15

Resumindo, os caracteres com maior heritabilidade são os parâmetros de qualidade do leite, seguidos dos de produção total e nos de heritabilidade mais baixa incluem-se os caracteres relacionados com a reprodução.

### 1.1.2. Correlação genética e fenotípica entre dois caracteres

A correlação fenotípica indica se os fenótipos X e Y, para as duas características X e Y, se encontram ou não associados (Gama, 2002). A correlação genética entre os caracteres X e Y indica se os indivíduos com valor genético elevado para X tendem a ter um valor genético elevado para o carácter Y (Gama, 2002).

As correlações genéticas, fenotípicas e ambientais estão intimamente relacionadas, pois o fenótipo é resultado da soma entre o valor genético e factor ambiental. (Rao & Bathia, 1992). Se ambos os caracteres tiverem heritabilidades baixas, espera-se uma correlação genética baixa entre eles, ou seja a correlação fenotípica entre dois caracteres é determinada essencialmente pela correlação ambiental. Se a heritabilidade for elevada, verifica-se que a

correlação fenotípica é mediada maioritariamente pela correlação genética (Rao & Bathia, 1992).

### **1.1.3. Repetibilidade**

Outro princípio fundamental a ter em conta, é conhecer a repetibilidade de determinadas características de importância económica (Wilcox et al., 1992). Entende-se por repetibilidade, o coeficiente de correlação entre os registos repetidos do mesmo indivíduo.

A título de exemplo, a correlação ( $r$ ) entre os registos repetidos de produção de leite total em 305 dias de vacas de primeira lactação e os mesmos registos em vacas de segunda lactação, é cerca de 0,5. Ou seja a repetibilidade do carácter produção de leite total em cada ciclo de lactação de 305 dias, é de 0,5 (Wilcox et al., 1992). Relativamente aos índices de concepção em cada ano no mesmo animal, tem uma repetibilidade perto de 0, o que significa que não existe correlação entre o número de inseminações por gestação na mesma vaca, em diferentes anos (Wilcox et al., 1992).

Os registos podem basear-se na ascendência ou na descendência. Na maioria dos casos os testes de descendência têm como objectivos obter uma estimativa do valor genético dos machos sobre a forma de caracteres só expressos em fêmeas. (Gama, 2002). Gama, (2002), refere ainda que este tipo de determinação de valor genético em machos apresenta algumas limitações, pois o sêmen pode ser utilizado em fêmeas de valores genéticos distintos o que pode levar a uma estimativa errada do valor genético do macho. Por isso mesmo a repetibilidade elevada só é conseguida após testagem de um elevado número de filhas de touros (Anexo 1 – exemplo de touro com elevado número de filhas e elevada repetibilidade).

## **2. Holsteinização – Processo de selecção direccionado ao melhoramento genético da raça Holstein-Frísia**

### **2.1. Contextualização da selecção genética**

O objectivo principal em produção de bovinos de leite, nos últimos 50 anos, foi melhorar a eficiência produtiva que, em termos de melhoramento, reflectiu-se numa selecção focada no aumento da produção de leite por vaca (Rodriguez-Martinez et al., 2008).

A raça apurada essencialmente para essa função foi a raça Holstein-Frísia (EFSA, 2009).

### **2.2. História da Raça Holstein-Frísia**

Em produção de bovinos de leite, Carbó (1996) define raça como um conjunto de animais que têm os mesmos ascendentes e que tenham sido desenvolvidos para uma função determinada.

O desenvolvimento da raça Holstein-Frísia (HF) iniciou-se há cerca de 2.000 anos atrás, quando o povo germânico colonizou a Holanda. (Gillespie & Flanders, 2010). Os bovinos

pretos do povo do norte Holandês e os bovinos brancos do povo Frísio foram domesticados apresentando uma evolução gradual e eficiente na produção de leite. No século XIX, iniciaram-se as primeiras importações para a América do Norte, onde começou o desenvolvimento da raça Holstein Americana (Oltenacu & Broom, 2010). Na América do Norte, o melhoramento da raça incidiu essencialmente sobre a produção de leite e ao fim de algumas gerações surgiram animais mais altos, mais descarnados e angulosos, enquanto os animais europeus, embora demonstrando alguma aptidão para leite, possuíam melhor qualidade de carcaça. (Associação Portuguesa de Criadores da Raça Frísia [ACPRF], 2008). Até à segunda metade do século XX, ou seja, até à introdução de novas tecnologias reprodutivas (inseminação artificial [IA], congelação de sémen) a raça permaneceu durante anos na América do Norte. (Oltenacu & Broom, 2010).

Mais tarde, com a introdução de tecnologias reprodutivas, principalmente a IA e transferência de embriões e as respectivas técnicas de congelação/descongelação de sémen e embriões, contribuíram para o melhoramento genético da raça mas também para a distribuição do material genético Holstein Americano para a Europa (Foote, 2002; Oltenacu & Algers, 2005).

## **2.3. Evolução da tecnologia reprodutiva e distribuição mundial da raça**

### **2.3.1 Inseminação artificial (IA)**

Com a introdução da IA em 1940 nos Estados Unidos, houve um impacto extremamente importante na reprodução e melhoramento genético das explorações (Foote, 2002). A tecnologia de congelação de sémen, iniciou-se em 1951, com maior impacto na indústria de produção de leite em 1973 (Oltenacu & Broom, 2010) e teve como resultados:

- Incentivo à realização de testes de progenia em machos reprodutores de valor genético superior (Oltenacu & Algers 2005)
- Aumento da exportação de sémen e distribuição mundial do material genético “superior” (Curry, 2002)
- Preservação do material genético no espaço e no tempo (Curry, 2002)
- Incremento da tecnologia e eficiência reprodutiva nas explorações (Foote, 2002)

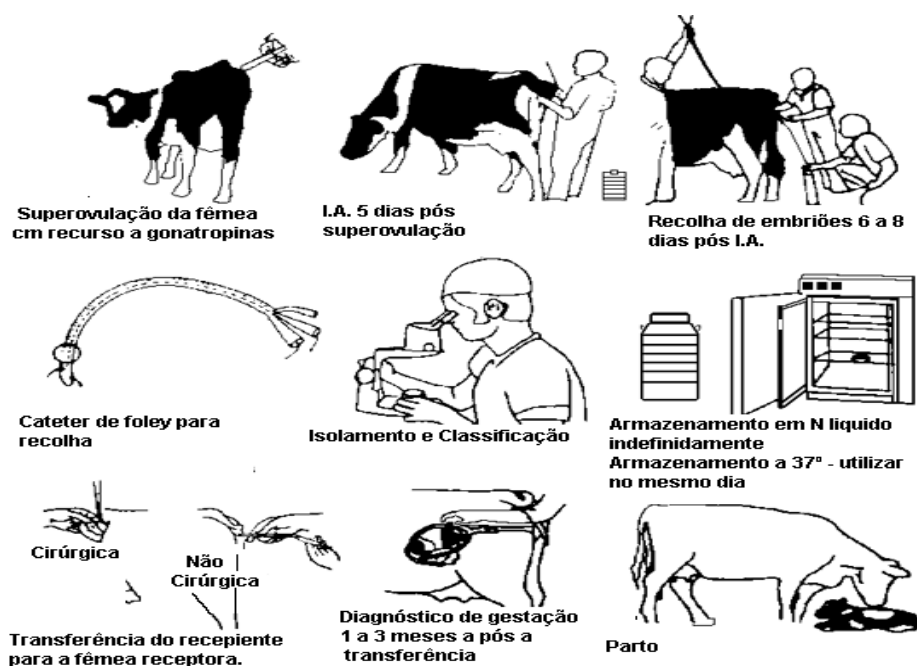
Segundo Oltenacu e Broom (2010), as exportações de sémen Holstein aumentaram de 400.000 unidades em 1973 para 8.000.000 em 1997, sendo que a maioria das exportações foram para países da União Europeia, particularmente Itália, Holanda, Alemanha e França.

### 2.3.2 Transferência de embriões (TE)

Outra tecnologia reprodutiva com grande impacto em bovinos de leite foi a transferência de embriões. A primeira transferência em bovinos foi realizada em 1949, mas só a partir dos anos 70, com a introdução da técnica de recolha de embriões não-cirúrgica, é que a TE iniciou o seu crescimento comercial na América do Norte (Gordon, 2005; Hasler, 2006). A Figura 1 representa o procedimento de TE, técnica cirúrgica e não-cirúrgica.

Figura 1: Transferência de embriões em Bovinos

([http://www.cruachan.com.au/embryo\\_transfer.htm](http://www.cruachan.com.au/embryo_transfer.htm))



O número de vitelas resultantes de TE registados na American Holstein Association aumentou de 1 em 1974 para mais de 11.000 no ano de 1999. Desde essa altura que tem estabilizado em cerca de 10 a 12 mil embriões por ano (Hasler, 2003).

Também a preservação de embriões por congelação e sexagem de embriões, melhoram a vertente comercial da tecnologia de transferência de embriões nos bovinos Holstein (Hasler, 2006). Os métodos de congelação de embriões, utilizando dimetil-sulfoxido ou glicerol como crioprotectores, tornaram a TE mais eficiente, pois deixou de estar dependente da disponibilidade imediata da fêmea receptora (Hasler, 2003).

Vários países Europeus (Holanda e França) implementaram programas de TE, pois esta medida funcionava como recurso de animais de valor genético elevado para os programas de melhoramento genético inerentes às explorações (Oltenu & Broom, 2010), aumentando a

intensidade de selecção e diminuição do intervalo de gerações (Gordon, 2005). No entanto Gordon (2005), afirma que a T.E., está normalmente restrita a núcleos de grandes explorações com programas de melhoramento e reprodução intensivos.

### **2.3.3. Sémen sexado**

A produção de sémen sexado apresenta uma enorme vantagem em termos de selecção e eficiência de substituição do efectivo (Vries et al., 2008). A técnica consiste na separação, por citometria de fluxo, dos espermatozóides em X e Y (Vries, 2008) e apresenta uma precisão superior a 90 % (Xu, Chaubal & Du, 2009). Em reprodução convencional o ratio macho: fêmea tende a aproximar-se dos 50:50 (Xu et al., 2009). Alguns estudos realizados sobre o efeito do manejo reprodutivo neste ratio, encontraram ligeiras diferenças relativamente ao valor citado por Xu, Chaubal e Du (2009), entre elas o intervalo inseminação – ovulação (Roelofs et al, 2006). Nos dias de hoje, na indústria de bovinos de leite, só as fêmeas e por vezes alguns machos reprodutores, têm valor produtivo para a exploração. Os restantes machos são eliminados da exploração muito cedo ou até mesmo abatidos, sendo o seu retorno financeiro muito reduzido (Xu et al, 2009). Neste sentido o uso de sémen sexado teve um impacto positivo em termos de bem-estar animal (EFSA, 2009).

### **2.3.4 Produção de embriões *in-vitro* (IVF – *In Vitro Fertilization*)**

O primeiro caso de nascimento obtido através de IVF foi relatado em 1982 (Stringfellow, 1995). Com o desenvolvimento da colheita de oócitos por punção folicular (Gordon, 2005) e técnicas avançadas de congelação/descongelação de embriões, as aplicações desta tecnologia foram aumentando (Stringfellow, 1995). Relativamente ao ano 2003, a International Embryo Transfer Society (IETS) relatou 106.220 transferências de embriões produzidos *in vitro* distribuídos mundialmente (Hansen, 2006a), o que representa um percentagem muito pequena no enquadramento da população bovina mundial. As razões para o insucesso foram os elevados custos associado à baixa sobrevivência embrionária (Hansen, 2006a).

Segundo Hansen, (2006a), a produção de embriões *in vitro* poderia desempenhar um papel importante em bovinos de leite, pelo seu papel nas medidas de manejo reprodutivo ao promover aumentos das taxas de concepção, no caso de explorações com baixa fertilidade por problemas de ovulação e morte embrionária precoce. Em termos de selecção, Peter, Hansen e Block (2004), referem que a IVF pode aumentar a os índices de selecção para caracteres quantitativos, melhorar a precisão e intensidade de selecção e redução de intervalo entre gerações.

Em conclusão, em grande parte, devido à evolução tecnológica descrita, a raça Holstein-Frísia representa, no presente, cerca de 80% da população de vacas de leite. As importações de sêmen e embriões resultaram na “Holsteinização” - da população bovina de leite da Europa (EFSA, 2009). No Reino Unido, há 30 anos atrás, predominava a raça Frísia europeia, sendo nos últimos anos substituída pela Holstein Americana, que representa, no presente, 90 % da população de bovinos de leite (Oltenacu & Algers, 2005).

Os principais factores responsáveis pela distribuição dos genes Holstein foram: o conhecimento a nível mundial da capacidade de produção de leite da raça; os objectivos dos produtores focalizados no aumento da venda de leite, e as novas tecnologias reprodutivas que permitiram importações do material genético dos Estados Unidos para os outros países (Oltenacu & Algers, 2005).

As tecnologias reprodutivas em conjunto com os testes de progenia em machos, contribuíram também para um ganho genético de 1,5 % por ano, no que diz respeito à produção de leite (Rodriguez-Martinez et al. 2008).

#### **2.4.Características morfo-fisiológicas da raça Holstein-Frísia**

As características distintivas de uma raça de bovinos de leite são: pelagem, peculiaridades de produção e composição de leite, conformação e tamanho (Carbó, 1995).

Os bovinos da raça Holstein-Frísia (HF), são facilmente reconhecidos pela sua pelagem malhada preta e branca (Gillespie & Flanders, 2010).

No entanto, existe um gene recessivo (*red factor*), através do qual, os animais homozigóticos manifestam uma coloração vermelha e branca (Gillespie & Flanders, 2010). A justificação de Olson (1999) para as variações do padrão preto ou vermelho nos bovinos é a seguinte: o *locus E (extension)* é responsável pela variação de coloração da pelagem dos bovinos, isto é, o *locus* responsável pela regulação dos níveis de tirosinase que, por sua vez, determina os níveis de eumelanina (cor preta) ou feomelanina (cor vermelha). O *locus E* é composto por 3 alelos,  $E^D$  (dominante), o alelo responsável pela cor preta, o  $E^+$ , responsável pelas combinações de preto, castanho avermelhado e o  $e$ , responsável pela coloração vermelha.

Em relação às restantes características morfológicas, os bovinos HF representam os resultados da selecção a que foram submetidos (Blanco & Gasque, 2001), ou seja, são animais com boa aptidão para produção de leite, tipicamente apresentando as seguintes características morfológicas: corpo anguloso, amplo e descarnado, pescoço longo bem definido. Apresenta uma capacidade corporal proporcional ao tamanho e um úbere bem desenvolvido (Blanco & Gasque, 2001). As fêmeas apresentam pesos médios de 680 Kg e os machos perto de 900 Kg



(Gillespie & Flanders, 2010). Os bovinos desta raça apresentam também uma elevada capacidade de ingestão (Stilwell, comunicação pessoal, Maio 3, 2011).

A média de produção anual em vacas testadas pela Holstein Association United States of America (HAUSA), em 2009, foi de 10.501 kg de produção total, 381 kg de gordura total e 322 kg de proteína total (HAUSA, 2011).

## **2.5. Holsteinização e pressão de selecção**

A pressão de selecção em bovinos de leite tem sido alvo de revisão por várias razões.

Com o aumento da produção de leite ao longo dos anos têm-se assistido ao decréscimo da performance reprodutiva nas populações de bovinos de leite (Rodriguez-Martinez et al., 2008) (Oltenacu & Algers, 2005). Tem-se verificado, nos últimos 25 a 35 anos, um aumento do intervalo entre partos, do número de I.A. por concepção e do número de dias abertos na população HF.

Além disso, Oltenacu e Algers (2005), refere a existência de correlações genéticas negativas entre a produção de leite por vaca e fertilidade e entre produção de leite e a incidência de doenças metabólicas relacionadas com a elevada produção.

A fertilidade é o factor mais complexo de avaliar quando se fala em performance reprodutiva (Rodriguez-Martinez et al., 2008). É impossível separar completamente os efeitos da componente genética (selecção) dos ambientais (nutrição, manejo sanitário e manejo reprodutivo). Estes factores, ao actuarem em conjunto, mascaram a sua contribuição e confundem as estratégias de manejo reprodutivo (Rodriguez-Martinez et al., 2008).

Contudo, pela sua baixa heritabilidade, as técnicas de melhoramento animal tradicionais, não incidiram fortemente sobre a fertilidade e outras características funcionais, pois o factor ambiental (desequilíbrios nutricionais, stress metabólico) prevalece sobre o factor genética (Weigel, 2010).

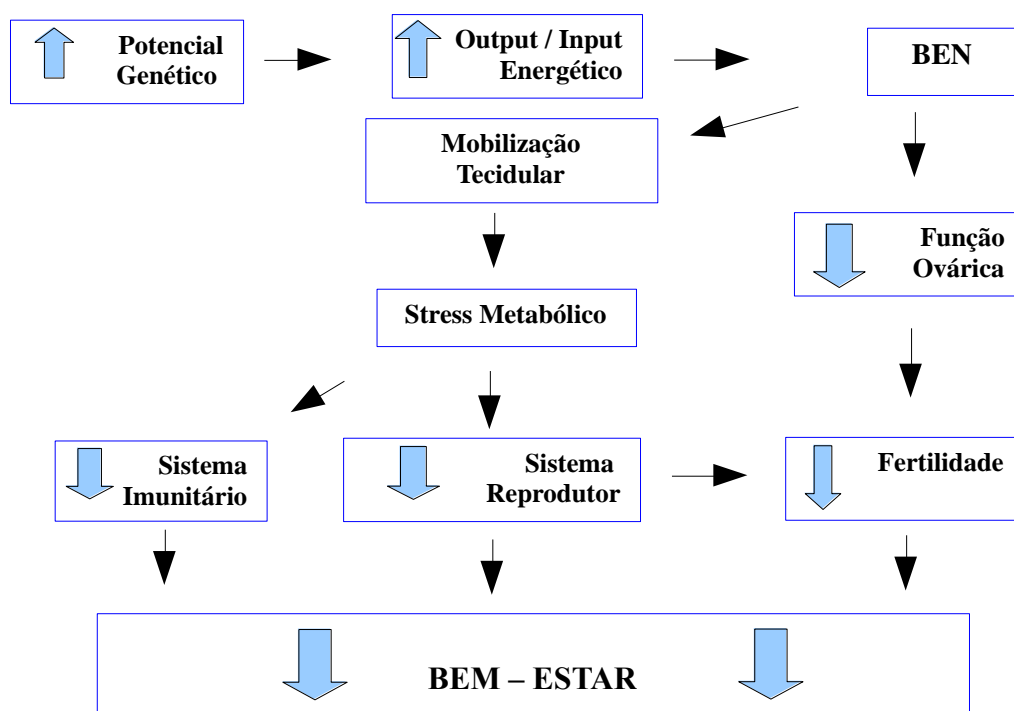
Os problemas de saúde e a sub-fertilidade trazem ao produtor prejuízos quer nos custos em tratamentos, inseminações sem sucesso, maior número de dias não produtivos e aumentos da taxa de refugo precoce nas explorações.

Na maioria das vacas de leite, particularmente as altas produtoras, pode ocorrer uma situação de balanço energético negativo (BEN) durante as primeiras semanas de lactação, ou seja quando o output de energia excede o input (ingestão de alimento). O BEN é um dos factores que está associado com a síndrome de sub-fertilidade durante as primeiras semanas pós-parto durante o período de restabelecimento da função ovárica para a próxima gestação. (Rodriguez-Martinez et al. 2008).

A elevada incidência de doenças, o declínio da performance reprodutiva e a modificação do comportamento normal são indicativos do decréscimo de bem-estar nas explorações. (Oltenacu & Algers, 2005)

O seguinte esquema criado (Figura 2), com base nas afirmações de vários autores (Oltenacu & Algers, 2005; Rodriguez-Martinez et al., 2008), explica a relação entre a pressão de selecção e o bem-estar em vacas altas produtoras.

Figura 2. Esquema - relação elevada produção de leite e bem-estar.



O bem-estar em bovinos de leite é cada vez mais determinante no sucesso das explorações industriais. A percepção do consumidor sobre a forma como os alimentos de origem animal são produzidos na agricultura moderna é um factor determinante, principalmente quando o assunto é bem-estar animal. Como foi referido, a selecção genética para a elevada produção de leite, é encarada como um dos factores de redução de bem-estar (Oltenacu & Algers, 2005). Se não forem tomadas medidas para contrariar este aspecto, espera-se no futuro graves consequências económicas na indústria de leite, por excesso de oferta face à procura dos produtos leiteiros.

## 2.6. Consanguinidade na população Holstein-Frísia

Outro facto concomitante à pressão de selecção foi o acasalamento entre indivíduos aparentados nas explorações, ou seja elevado grau de consanguinidade (Cassel, 2007). Com a evolução da IA neste tipo de explorações, a aquisição de sémen de touros comum a várias explorações de bovinos de leite foi aumentando (Cassel, 2007). A maior parte da consanguinidade tem origem na utilização intensiva de sémen proveniente de touros onde a pressão de selecção é bastante elevada (Swalve, Rosner & Wemheuer, 2003).

A título de exemplo, VanDoormaar, Miglior, Kistemaker e Brand (2005), determinaram que 93 % dos bovinos Holstein Canadianos nascidos desde 2003 são descendentes do touro *Hannoverhill Starbuck*. Este e outros exemplos têm como consequências desta o progressivo aumento do coeficiente de consanguinidade nas populações, situação frequente em explorações com este de sistema de reprodução. (Gama, 2002). Young e Seykora (1996) estimaram a consanguinidade em fêmeas HF, nos Estados Unidos, entre 1970 e 1982 e comparou os seus valores com outras estimativas obtidas em 1936, concluindo que a consanguinidade entre 1931 e 1982 não aumentou. Contudo, Young e Seykora (1996) afirmaram, que, a partir desta data, com o aumento das relações genéticas na população, seria difícil evitar aumentos de consanguinidade. Em 1990, os mesmos autores, realizaram outra análise de *pedigree* com bases diferentes, isto é datas de início de avaliação genealógica diferente. Os resultados obtidos com base em 1950, foram, para 0,5% para 1970, 0,3% para 1976, 1,6% para 1982, e 2,1% para 1990.

Em Portugal, foi feita a análise do *pedigree* nacional de bovinos da raça HF (Vasconcelos, Martins, Ferreira, Pinto & Carvalheira, 2005). Avaliou-se a consanguinidade em 2003 tomando como ano base 1960. Identificou-se a proporção de animais consanguíneos de 8,6%, em 102547 animais (33.938 machos e 68.609 fêmeas) com um coeficiente de consanguinidade médio de 1,8%, variando entre 0,0% e 37,5% e cerca de 90% da população com coeficiente inferior a 5%. (Vasconcelos et al., 2005). Os autores referiram que a proporção de animais consanguíneos é relativamente pequena comparando com outros países, como a Alemanha (80,3%), por exemplo. A justificação para este valor baseia-se no facto de só nos últimos 12 anos de análise (1991 a 2003) é que se verificou o aumento do número de indivíduos consanguíneos.

O coeficiente de consanguinidade reflecte o decréscimo proporcional da frequência de heterozigóticos em relação à proporção de indivíduos homozigóticos, sem alterar as frequências génicas (Gama, 2002). A situação limite em que se pode exemplificar esta teoria é a auto- fecundação, no caso das plantas, ou seja o acasalamento do indivíduo consigo mesmo,

(Cassel, 1999). Se o indivíduo na geração 0 for heterozigóticos, ou seja genótipo Aa, observa-se uma redução da frequência de Aa e aumento das frequências de AA e aa, mas as frequências génicas neste caso mantêm-se constantes (Gama, 2002). A Tabela 3 explica as proposições.

Tabela 3: Mecanismo de estabelecimento de consanguinidade no caso de auto-fecundação (adaptado de Gama, 2002).

<b>G0</b>	<b>Aa x Aa</b>			<b>F(A)=F(a)</b>
<b>G1</b>	AA (0,25)	Aa (0,50)	aa (0,25)	<b>F(A) = (Fa)</b>
<b>G2</b>	AA (0,25 +1/4 (0,5)	Aa (0,25)	aa (0,25 +1/40(0,5)	<b>F(A) = F(a)</b>

A homozigotia tende a ser progressiva e tem como consequências o aumento de uniformidade relativamente às características individuais, a redução da variação do material genético das células germinativas e o aumento da frequência de genes recessivos (Cassel, 1999)

Apesar de este exemplo não ser possível nos mamíferos, este processo de aumento de homozigotia também se verifica com a consanguinidade em bovinos de leite e noutras espécies pecuárias (Cassel, 1999).

### 2.6.1 Depressão consanguínea

Ao decréscimo da performance fenotípica relacionado com o aumento da consanguinidade chama-se depressão consanguínea (Wiggans & VanRendem, 1995), ou seja, o decréscimo médio de produtividade por cada aumento de 1% na consanguinidade (Gama, 2002).

Com o aumento de consanguinidade de cerca de 0,1% por ano na raça HF, a depressão consanguínea resultante reflecte-se em aumentos de mortalidade, diminuição de longevidade, fertilidade e resistência a doenças. (Heins, Hansen, & Seykora, 2007).

Para o ponto de vista do produtor esta realidade, por vezes, não é perceptível (Heins et al., 2007). A reduzida variabilidade genética de uma população pode reflectir-se sobre aspectos negativos que muitas vezes o produtor não consegue associar, ou seja, perdas por aparecimento de nados mortos, diminuição de resistência a doenças e redução de fertilidade nos animais (Heins et al., 2007).

Tem-se verificado ao longo dos anos, que, com o aumento da pressão de selecção, existe uma diminuição da taxa concepção dos animais, um aumento do número de dias abertos e um aumento da probabilidade de abate devido a várias tentativas de I.A. sem sucesso (Weigel,

2010). Para uma das principais razões para esta situação, é a viabilidade embrionária tendencialmente menor com o aumento da consanguinidade (Heins, et al., 2007).

### **2.6.2. Quantificação dos efeitos da depressão consanguínea**

Foram realizados vários estudos no sentido de quantificar os efeitos negativos da depressão consanguínea na performance da população bovina HF. Por análise do *pedigree* da raça em vários países como os EUA e a Irlanda, vários autores como Thompson e Everett (2000), Parland, Kearney, Rath & Berry, (2010) e Adamec, Cassel, Smith e Pearson (2006), estimaram os efeitos da depressão consanguínea, no que diz respeito à lactação, distócia, mortalidade perinatal, idade ao primeiro parto e longevidade.

**Ciclos de lactação** – Os elevados níveis de consanguinidade têm efeitos a nível da fase inicial de lactação, até ao pico de lactação, podendo reduzir a dimensão deste último. Na fase seguinte não foram encontradas relações significativas (Thompson & Everett, 2000).

### **Distócia e incidência de nados mortos**

Adamec, Cassel, Smith e Pearson (2006), nos EUA, avaliaram os efeitos da consanguinidade em primíparas e múltiparas na frequência de distócia e mortalidade peri-natal. Em fêmeas primíparas, por cada 1% de aumento de consanguinidade aumenta a probabilidade de distócia em 0,42 %, em nascimentos de vitelos macho e de 0,30% no caso de ser fêmea. A incidência de nados mortos aumentou 0,25 % nos machos e 0,20 % no caso das fêmeas por cada aumento de 1 % de consanguinidade. Os efeitos da consanguinidade nestes parâmetros, no caso de vacas múltiparas, são menos acentuados, relativamente aos partos de primíparas, mas devem ser considerados (Adamec et al. 2006).

No *pedigree* Irlandês, calcularam-se os seguintes coeficientes de consanguinidade: 2,4 % no sector materno e 3,0 % na descendência (vitelos) (ano base 1950). Quanto à incidência de nados mortos, verificou o aumento de 0,06 % por 1% de aumento de consanguinidade materna. O efeito da consanguinidade nos vitelos na incidência de nados mortos era dependente do parto, em que se verificou essa relação principalmente em vitelos filhos de fêmeas primíparas (Parland et al. 2010).

Verificou-se também que o nível de distócia aumentava com aumento de 25 % de coeficiente de consanguinidade. (Parland et al., 2010).

**Idade ao primeiro parto** - Smith, Cassel e Pearson (1998) detectaram a cada 1% de aumento de consanguinidade, a idade ao primeiro parto aumenta 0,55 dias.

**Longevidade** – por casa 1 % de aumento de consanguinidade a média de vida útil dos animais diminui 6 dias (Smith et al., 1998).

## **2.7. Doenças autossómicas recessivas em bovinos Holstein**

Outro aspecto importante de referir, relacionado com a consanguinidade numa população, é o aumento de probabilidade de aparecimento de genes recessivos deletérios, associados a doenças, que, na ausência de consanguinidade, se apresentariam em baixa frequência (Gama, 2002).

Têm sido feitos estudos no sentido de rastrear os genes recessivos nas populações (Meydan, Yildiz & Agerholm, 2010).

Os genes autossómicos recessivos com maior impacto na raça HF são os seguintes (Meydan et al., 2010).

**BLAD** – Deficiência de Adesão Leucocitária em Bovinos

**DUMPS** - Deficiência enzimática em uridina monofosfato

**CVM** – Complexo de mal-formações vertebrais

**BC** - Citrulinémia Bovina

**FXID** – Deficiência no factor XI da cascata de coagulação

Meydan, Yildiz e Agerholm (2010), realizaram um estudo em 350 vacas HF, na Turquia, com o objectivo de detectar animais portadores deste tipo de genes, com recurso a técnicas de PCR. Foi possível obter os seguintes resultados: 14 animais portadores do gene BLAD (4%), 12 animais com o gene CVM (3,4%) e 4 com o gene FXID. Os restantes genes não foram detectados neste grupo de animais.

### **3. Melhoramento genético sustentável**

Como já foi dito, inicialmente os objectivos de melhoramento incidiram-se sobre a produção de leite e a conformação corporal. Esta situação levou ao declínio reprodutivo da população HF, crescente consanguinidade e decréscimo do valor genético de outras características funcionais. (Sorensen, 2007). Em termos de bem-estar animal e resposta às exigências económicas do mercado de leite, este cenário exige do produtor uma melhor eficiência da gestão de características funcionais de modo a produzir leite a menores custos de produção (veterinário, IA adicionais, tratamentos etc.) (Sorensen, 2007). Tendo em conta o cenário que tem vindo a ser descrito ao longo deste trabalho, resultante dos mecanismos de selecção tradicionais, começa a tornar-se cada vez mais imperativo na produção de leite, dar mais ênfase a outras características funcionais como a fertilidade, resistência a doenças e longevidade (Rodriguez-Martinez et. al 2010), ou seja começa a surgir a necessidade de mudar os objectivos da metodologia de melhoramento animal (Sorensen, 2007). Em relação ao bem-estar animal, as razões para se considerar, não se baseiam só em questões morais mas também na percepção dos consumidores, que cada vez mais são sensíveis às questões de saúde e bem-estar animal nos animais de produção (Sorensen, 2007).

Outras estratégias de melhoramento genético se propõem tais como:

- Selecção para outras características funcionais, nomeadamente para as características relacionadas para a fertilidade
- A utilização de touros menos seleccionados para a elevada produção ou importados de outros países de modo a diminuir os níveis de consanguinidade
- A introdução de machos Frísia nas populações HF europeias também pode ser uma possibilidade para evitar a Holsteinização das populações
- Realização de cruzamentos de fêmeas HF com outras raças de aptidão de produção de leite mas que ao longo dos anos foram seleccionadas para outras características.

#### **3.1. Cruzamentos entre raças – *Crossbreeding***

Entende-se por cruzamento (*crossbreeding*), o acasalamento entre indivíduos de raças distintas, com vista à exploração da variabilidade inter-racial e representa uma das práticas de melhoramento genético em produção animal (Gama, 2002).

O cruzamento é provavelmente uma forma rápida de melhorar o potencial genético de uma população pois permite aproveitar a complementaridade entre raças e tirar partido da heterose ou vigor-híbrido (Gama, 2002). O vigor híbrido ou heterose individual define a diferença de performance produtiva entre animais resultantes de cruzamentos de duas raças diferentes e

animais de raça pura. (Caraviello, 2004). A heterose resulta de combinações genéticas favoráveis em características importantes em bovinos de leite e outras espécies (Cassel, 2007). Para os produtores que pretendem concentrar-se nas características funcionais, os cruzamentos poderão ter um interesse especial, pois o efeito da heterose tende a ser mais elevado nas características funcionais, que por sua vez têm baixas heritabilidades, em comparação com as características de produção (Sorensen, 2007).

*Crossbreeding* tem sido apontado como uma das formas de aumentar a sustentabilidade em melhoramento genético de bovinos de leite. Além de ser uma alternativa para melhorar os parâmetros relacionados com a saúde, fertilidade e longevidade, (Caraviello, 2004) é também umas das formas de atenuar os efeitos da depressão consanguínea (Sorensen, 2007). Tem sido uma prática já utilizada em larga escala e com sucesso, nos suínos e bovinos de carne (Greiner, 2009; Lammers, Stender & Honeyman, 2007).

### 3.1.1. Relação heterose, depressão consanguínea e heritabilidade

A Tabela 4 indica que os caracteres com baixa heritabilidade são os mais afectados pela depressão consanguínea, mas são esses mesmos, que também beneficiam em maior grau com a heterose.

Tabela 4: Relação Heritabilidade, Heterose e Consanguinidade para diferentes caracteres (Adaptado de Gama, 2002).

Caracteres	Heritabilidade	Depressão Consanguínea	Heterose
<b>Reprodutivos</b>	<0.2	- - -	+ + +
<b>Produção</b>	0,2 – 0,4	- -	+ +
<b>Composição/ Qualidade</b>	> 0,4	-	+

A relação entre heritabilidade, heterose e depressão consanguínea é devido aos diferentes graus de dominância dos caracteres (Caraviello, 2004).

Os caracteres com acção fundamentalmente de dominância terão uma heritabilidade mais baixa pois a maior parte da variância fenotípica é essencialmente devido à variação de dominância (Gama, 2002). Por exemplo, os genes que afectam a característica fertilidade são essencialmente dominantes, a consanguinidade vai ter repercussões negativas nesta característica dependendo do coeficiente de consanguinidade, mas ao mesmo tempo são características que poderão beneficiar da heterose. (Caraviello, 2004). Quando a heritabilidade



é elevada, os genes têm essencialmente acção aditiva, não havendo a dominância necessária para manifestação de depressão consanguínea e heterose (Gama, 2002).

A heterose esperada num cruzamento, será tanto maior, quanto maior for a diferença entre as raças puras no que diz respeito às frequências génicas e quanto maior for o grau de dominância do carácter. (Gama, 2002).

### **3.1.2. Mecanismos de cruzamentos**

Um programa de cruzamentos sustentável exige diversos requisitos para determinados objectivos de produção, entre os quais o número de raças a utilizar, tipo de sistema de cruzamento e quais as raças a utilizar.

#### **3.1.2.1. Raças utilizadas em cruzamentos com Holstein-Frísia**

Sorensen et al. (2008) refere que a maioria dos produtores na Dinamarca, prefere iniciar os seus sistemas de cruzamento em explorações em que a população é maioritariamente HF e que, até a data, muitos produtores já iniciaram cruzamentos com raças Vermelha Dinamarquesa e Jersey. Outras raças utilizadas foram a Vermelha Sueca, Vermelha Norueguesa, Ayshire, Montbéliarde e Parda Suíça.

Na Califórnia, algumas explorações realizaram cruzamentos de vacas e novilhas HF com sêmen das raças Montbéliarde e Normande, importado de França e sêmen de Raças Vermelha Norueguesa e Vermelha Sueca. Estas duas últimas partilham o mesmo ancestral, podendo chamar-se as duas colectivamente Vermelhas Nórdicas (Heins, Hansen & Seykora, 2006a).

#### **3.1.2.2. Cruzamento rotacional *versus* retro-cruzamento**

Vários autores recomendam a utilização de cruzamentos rotacionais ao invés de retro-cruzamentos (Hansen, 2006b; Sorensen et al., 2008). O retro-cruzamento de uma fêmea F1 com uma das raças que lhe deu origem é uma medida contraproducente. Hansen (2006b), recomenda a utilização de um touro de uma terceira raça para inseminar as fêmeas F1, antes de voltar às raças que lhe deram origem – cruzamento rotacional.

Um aspecto importante, relativamente aos cruzamentos de rotação, é que estes tendem para uma situação de equilíbrio em termos de composição de raças. Se o produtor possuir um conjunto de fêmeas de raça C e pretender entrar num sistema de cruzamentos em que os machos entram na sequência A-B-C, a composição genética do efectivo tende rapidamente para um equilíbrio (Gama, 2002).

### 3.1.2.3. Número de raças para os cruzamentos

O número de raças utilizado num sistema de cruzamentos é um factor para o sucesso deste tipo de programas (Hansen, 2006b). A Tabela 5 refere os valores de heterose (%) obtidos ao longo de 9 gerações, com a utilização de 2, 3 e 4 raças.

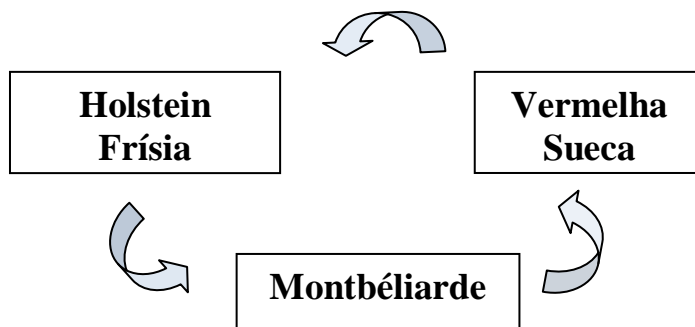
Tabela 5: Evolução dos níveis de heterose retida ao longo das gerações, com a utilização de 2, 3 ou 4 raças em sistemas rotacionais (Adaptado de Hansen, 2006b).

Ger.	2 raças	3 raças	4 raças
	%		
1	100	100	100
2	50	100	100
3	75	75	100
4	63	88	88
5	69	88	94
6	69	84	94
7	67	86	94
8	67	86	93
9	67	86	93

Através de interpretação da Tabela 5, o primeiro aspecto a referir é que, com a utilização de maior número de raças, os níveis de heterose se mantêm elevados. No entanto, Hansen (2006b) acrescenta que, para as 4 primeiras gerações, no que diz respeito às médias de heterose obtidas, a diferença existente entre a utilização de 2 raças e 3 raças é significativa (19%), enquanto, a diferença entre a utilização de 3 raças comparando com a de 4 raças é de apenas 6 %. Com a utilização de apenas 2 raças, verifica-se uma descida da heterose até 50 % logo na segunda geração e o seu valor ao longo das gerações, atinge apenas os 67%. Hansen (2006b) refere ainda que, os produtores preferem valores de heterose no mínimo de 75%. Ou seja, o ideal nestes casos será a utilização de 3 raças (Hansen, 2006b; Sorensen, 2007), pois os sistemas de cruzamento com apenas duas raças limitam o impacto do vigor híbrido e os sistemas com mais de 3 raças limitam o impacto da raça de elevado mérito para determinadas necessidades da exploração.

A utilização de raças nórdicas e francesas em sistemas rotacionais pode realizar-se como indicado no seguinte esquema (Figura 3) (Hansen, 2006b).

Figura 3. Cruzamento rotacional entre Holstein-Frísia, Montbéliarde e Vermelha Sueca (adaptado de Hansen (2006b)).



### 3.2. Raça Montbéliarde

#### 3.2.1 História e desenvolvimento

A raça Montbéliarde pertence ao ramo Jurássico (origem *Bos frontosus*), do qual derivam também as raças do grupo *Pied Rouge*. A sua história inicia-se no século XVIII, quando os agricultores de Bernese Oberland (Suíça) se instalaram na região de Montbéliarde (França), com os seus animais (Mason, 1998). Em termos zootécnicos, a raça pertence à mesma família que as raças Simmental e Fleckvieh, também estas com origem nos ancestrais bovinos de Berna (Gros & Millot, 1962). A partir de 1872, através do trabalho e técnicas de melhoramento aplicadas aos rebanhos, a raça Montbéliarde rapidamente ganhou reputação, participando em competições reconhecida como raça. Em 1889, a raça é oficialmente reconhecida e incluída no registo oficial de raças francesas (Organisme de Sélection Montbéliarde [OSM], 2008). Os bovinos da raça Montbéliarde rapidamente se adaptaram às condições edafo-climáticas típicas da sua região de origem, isto é, elevadas altitudes e grandes diferenças de temperatura (-25°C no Inverno e 35 ° C no Verão), o que justifica algumas das suas características: a sua robustez e boa capacidade de adaptação a condições adversas (OSM, 2008). Ao longo dos anos, tem-se verificado a sua distribuição noutras regiões de França, assim como exportações para outros países e a crescente utilização para cruzamentos (Swiss Herdbook, 2009). É a segunda raça bovina de leite mais comum em França, representando em 2010, 16,2 % do efectivo de bovinos de leite francês (OSM, 2010).

#### 3.2.2. Objectivos de selecção e características morfo-fisiológicas

Considera-se uma raça com aptidão de produção mista, ou seja, leite e carne (Swiss Herdbook, 2009), sendo a produção de leite, especialmente direccionada para o fabrico de queijo (OSM, 2008). A qualidade de produção deste produto depende de 2 factores: teor

proteico elevado e elevada concentração determinados tipos de caseína com efeito favorável no rendimento queijeiro e a velocidade com que este coagula (OSM, 2008). Nos bovinos de leite, a presença do alelo B da caseína está associado aos melhores valores genéticos e fenotípicos em termos de qualidade de produção de queijo, ao contrário do alelo A e E (Ikonen, Ahlfors, Kempe, Ojala, Ruottinen, 1999). Em 1988, Claude Gros, determinou a frequência de 37 % do alelo B na população Montbéliarde francesa (OSM, 2008).

Por este motivo, a principal prioridade de selecção na raça, foi o progresso genético em termos de teor proteico e óptimo nível de produção de leite (50 %). Outros objectivos de selecção, embora em menor grau, também foram apreciados, entre quais, a resistência a mastites (12,5%), fertilidade (12,5 %), longevidade (12,5 %) e características morfológicas (12,5 %) (OSM, 2008).

Em termos de produção de leite, os resultados obtidos pela OSM em 2010 foram os seguintes: em 246,018 fêmeas inscritas, 60,7 % das fêmeas Montbéliarde francesas, a média de produção total foi cerca de 7000 kg, 3,27 % de proteína e 3,88 % de gordura (OSM, 2010).

Quando à produção de carne, destacam-se algumas diferenças relativamente à raça HF, entre os quais, menor índice de conversão alimentar, maior peso de carcaça, maior peso à entrada em engordas e melhor classificação de carcaça (OSM, 2008).

Em termos de características físicas, distingue-se pela sua pelagem vermelha e branca, em que a cor branca predomina nas extremidades (cauda, membros, cabeça). A coloração branca da face é bem delimitada (OSM, 2008) (Figura 4), característica que permite a sua fácil identificação.

Figura 4. Fêmea bovina Montbéliarde. Disponível em:

<http://www.ausredgenetics.com.au/pages/gallery/montbeliarde-daughters.php>



A explicação genética para esta característica é dada por Olson (1999). O *locus S* (*Spotting*), responsável de presença ou ausência de manchas brancas, apresenta 3 tipos de mutações, além

do alelo  $S^+$  (ausência de manchas brancas): a mutação  $S^H$ , responsável pelo padrão Hereford se homozigótico,  $S^P$ , padrão Pinzgauer e  $s$ , recessivo, responsável pelas manchas brancas irregulares (HF, Simmental, Ayrshire). O grau de dominância deste *locus* é  $S^P = S^H > S^+ > s$ . As raças Simmental e Montbéliarde possuem um gene que produz uma mancha branca na face, distinto do padrão Hereford ( $S^H$ ), ou seja, o gene dominante *Bl* (*blaze pattern*), cujo os alelos são *Bl* e  $Bl^+$ . Dado que todos os indivíduos Simmental e Montbéliard puros possuem o padrão de manchas irregulares, isto é genótipo *ss*, Olson (1999) afirma que a característica de presença de mancha na branca na face é independente do *locus* *S*. Segundo, Olson (1999), a combinação *Bl/Bl* e *Bl/Bl*<sup>+</sup> juntamente com o genótipo *s/s* origina a coloração branca distinta na face das raças Simmental e Montbéliarde.

Outras características morfológicas destacam-se a cabeça e focinho grandes, dorso recto e garupa ligeiramente inclinada, os membros posteriores são longos e musculados e o úbere, de forma cilíndrica, apresenta uma boa fixação através do forte ligamento suspensor. O peso médio das fêmeas adultas situa-se entre os 650 a 800 kg, enquanto que os touros entre os 1000 a 1200 kg. (OSM, 2008).

### **3.3. Raça Vermelha Sueca (VS)**

#### **3.3.1. História e desenvolvimento**

A raça de bovinos de leite, correctamente designada por Vermelha-e-Branca Sueca, teve a sua origem, como o próprio nome indica, na Suécia (Mason, 1998) e representa, juntamente com a Holstein Sueca, uma das principais raças de leite no país (Ali, 2005; Garcia, 2009).

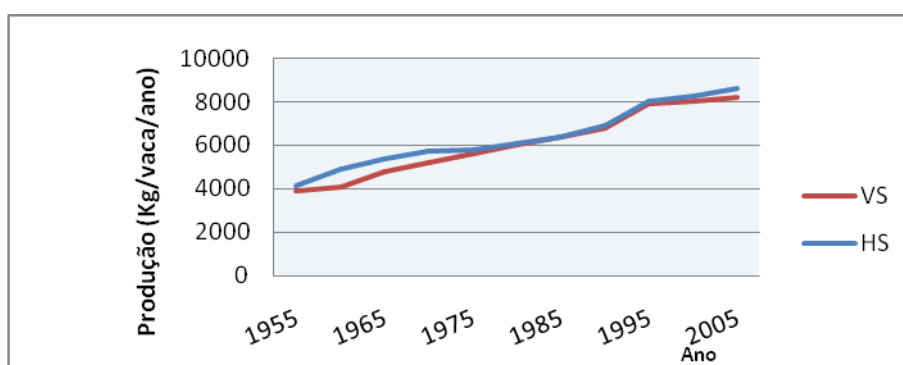
Os cruzamentos entre os bovinos da raça *Swedish Red Pied* e *Swedish Ayrshire* deram origem à raça VS, em 1928 (Mason, 1998). Anteriormente a esta data, as raças ancestrais, foram seleccionadas fundamentalmente pela conformação e características de produção de leite. O objectivo ao cruzar estas raças, foi criar uma raça pura e aumentar os objectivos de selecção para a produção de leite (Ali, 2005). Os bovinos VS dispersaram-se por toda a Suécia, mas são maioritariamente encontrados nas regiões centro e sul, com excepção das províncias de Skåne e Halland, onde predomina a Holstein Sueca (HS) (Ali, 2005).

#### **3.3.2. Objectivos de selecção e características morfo-fisiológicas**

Nos dias de hoje, a selecção genética nas raças bovinas suecas baseia-se na utilização do *Nordic Total Merit* (NTM), que consiste num método de avaliação sistemático de touros, para ajudar os produtores a seleccionar a componente sémén do seu efectivo reprodutor. (Viging Genetics, 2010a). O objectivo deste método é realizar a avaliação de mais de 50 valores genéticos e combiná-los em 11 características de peso económico relevante entre as quais,

produção (35%), fertilidade da descendência (15 %), mastite (15%), úbere (14%), problemas podais (7%), facilidade de parto (7%) entre outras. (Viking Genetics, 2010a). A raça VS é assim reconhecida pelos seus níveis de produção elevados, mas também pelas suas características de facilidade de parto e bons índices de fertilidade. O Gráfico 1 representa a evolução da produção de leite nas diferentes raças na Suécia.

Gráfico 1. Evolução da Produção (kg/vaca/ano) ao longo dos anos, nos bovinos Holstein Sueca e Vermelha Sueca (Suécia) (Rodriguez-Martinez et al., 2008).



Nos últimos registos de produção (2010) obteve-se, os seguintes valores por vaca 8741 kg de produção total, 380 kg de gordura total (4.35 %), 308 kg de proteína total (3,5%) e contagem de células somáticas de 81.000. No que diz respeito aos caracteres funcionais, registou-se, 4,09 % de distócias e 6,39 % de nados mortos em fêmeas primíparas, período voluntário de espera médio de 86 dias e intervalos entre partos de 13,1 meses (Viking Genetics, 2010b).

Fisicamente, caracteriza-se pela sua pelagem vermelha com pequenas marcas brancas (Mason, 1998). As fêmeas adultas são de tamanho médio e o seu peso ronda os 550 kg (Figura 5)

Figura 5. Fêmea bovina Vermelha Sueca. Disponível em: <http://www.vikinggenetics.com/en/srb/about.asp>



Tem-se verificado nos últimos anos, o aumento das exportações do sémen de VS para os EUA e outros países de modo a realizar cruzamentos com a raça HF (Ali, 2005).

#### **4. Abordagem comparativa com base na performance reprodutiva**

A existência de correlações genéticas negativas evidentes entre a produção de leite e performance reprodutiva e a baixa heritabilidade destes caracteres (Rodriguez-Martinez et al. 2008), é um importante factor de comparação perante este tipo de estratégia de melhoramento animal. Como já foi referido, este grupo de características apresenta maior benefício pela heterose e em contrapartida é penalizada pela depressão consanguínea, sendo este o grupo de características onde poderão ser encontrados benefícios numa situação de cruzamentos.

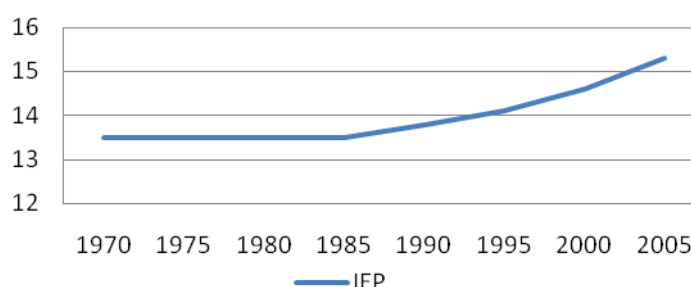
A performance reprodutiva de uma exploração de bovinos de leite pode ser afectada pela fertilidade dos elementos do efectivo (vacas e sémen), manejo reprodutivo da exploração, desenvolvimento embrionário/fetal, saúde reprodutiva do efectivo e sobrevivência da descendência no período neo-natal (Rodriguez-Martinez et al, 2008).

##### **4.1. Fertilidade**

No que diz respeito à fertilidade, Rodriguez-Martinez et. al (2008), consideram os principais indicadores de monitorização: o índice de concepção e intervalo entre partos (IEP) (Rodriguez-Martinez et al. 2008). O IEP resulta do somatório do número de dias abertos e duração da gestação. (Peter, 2000). Entende-se por número de dias abertos o intervalo de tempo entre o parto e inseminação fecundante. O número de dias abertos é constituído pelo período voluntário de espera (intervalo parto – 1ª inseminação) e o período de reprodução activa (intervalo 1ª inseminação – inseminação fecundante) (Peter, 2000).

Têm-se assistido ao longo dos últimos 30 anos ao aumento progressivo do IEP, índice de concepção e intervalo parto-concepção, na população HF (Rodriguez-Martinez et al. 2008). O gráfico 2 representa o aumento progressivo do IEP na população HF.

Gráfico 2. Evolução do Intervalo entre partos (meses) ao longo dos anos, na população Holstein-Frísia (adaptado de Rodriguez-Martinez et al., 2008)



Numa situação de crossbreeding, Heins, Hansen e Seykora (2006a), detectaram um aumento estatisticamente significativo do período voluntário de espera e número de dias abertos em fêmeas HF (69 dias e 150 dias, respectivamente) relativamente aos respectivos cruzamentos com Normande (62 dias e 123 dias), Montbéliarde (65 dias e 131 dias) e Vermelhas Nórdicas (66 dias e 129 dias). As taxas de concepção ao primeiro serviço foram mais baixas nas HF (22%), seguido das F1 Nórdicas Suecas x HF (30%) e F1 Montbéliarde x HF (31%), sendo as F1 Normande x HF, o grupo genético com maior taxa de concepção ao primeiro serviço.

#### 4.2. Distócia e mortalidade peri-natal da descendência

As dificuldades na altura do parto podem causar trauma quer para a vaca quer para o neonato, levando ao aumento da percentagem de nados mortos, repercussões em termos de saúde materna, baixa performance produtiva ou até mesmo morte da mãe (Heins, Hansen & Seykora, 2006b).

Foram referidos, nesta dissertação, os efeitos da selecção genética e da consanguinidade no aumento generalizado do grau de distócia e percentagem de nados mortos na população Holstein-Frísia, principalmente em primíparas. Meyer, Berger, Thompson & Sattler (2001), referem que cerca de 23 % de fêmeas primíparas Holstein necessitam de assistência no processo de parto.

Os genes relacionados com as características de facilidade ao parto apresentam uma heritabilidade de 0,08 (Gama, 2002) e os seus níveis de heterose, podem ir de 10 a 13 % (Sorensen, 2007).

Quando se avalia os graus de distócia e nados-mortos, tendo em conta diferentes grupos genéticos, é importante referir a influência da respectiva raça materna e raça paterna em causa, separar as fêmeas em primíparas e múltíparas, as épocas do ano e o sexo dos vitelos (Heins et al., 2006b), devido à maior probabilidade de ocorrência de distócia e nados mortos



em fêmeas primíparas, assim como naquelas em que a descendência é um vitelo macho (Meyer et al. 2001).

Os graus de distócia podem ser avaliados tendo em conta uma escala de 1 a 5 (1 - parto rápido, fácil sem assistência, 2 – mais de 2 horas em trabalho de parto, mas sem assistência, 3 – assistência mínima, mas sem dificuldade, 4 – alguma dificuldade, manobras obstétricas, 5 – dificuldade de parto extrema que requer utilização de extractor mecânico) e para análise estatística pode considerar-se o grau 4 e 5 como níveis de dificuldade de parto (Heins et al., 2006b)

Heins, Hansen e Seykora (2006b), verificaram os efeitos da heterose na incidência de distócia e nados-mortos em novilhas e em vacas HF puras e respectivos cruzamentos com raças Montbéliarde, Normande e Vermelhas Nórdicas, inseminadas com touros das raças Parda Suíça, Vermelha Nórdica e Montbéliarde. Relativamente à influência da raça materna, a percentagem de distócia e nados mortos (% distócia/% nados mortos) em primíparas foi mais elevada nas HF Puras (17,7% / 14%) que nos respectivos cruzamentos, Normande x HF (11,6% / 9,9 %), Montbéliarde x HF (7,2% / 6,2%), Vermelhas Nórdicas – HF (3,7%/5,1 %). Relativamente à influência da raça paterna, Heins et al. (2006b), incluiu apenas as mães HF e verificou que, quando inseminadas com HF tiveram maior % de distócia e nados mortos (16,4% /15,1 %) relativamente às vacas inseminadas com touros das outras raças. Os vitelos puros HF têm maior percentagem de nados mortos que vitelos cruzados, ou seja, a heterose resulta em maior vitalidade, menor dificuldade ao parto e menor percentagem de nados-mortos (Heins, et al.2006b).

Em conclusão, para uma avaliação quantitativa da performance reprodutiva de uma determinada população de bovinos, considera-se o seguinte plano de avaliação da performance reprodutiva em bovinos de leite (Heins et al. 2006b; Jainudeen & Hafez 2000):

- Idade ao primeiro parto (meses ou dias)
- Índice de concepção ao primeiro serviço - % (fêmeas gestantes ao 1º serviço/ nº de fêmeas cobertas no primeiro serviço)
- Índice de concepção global - % (nº de gestações confirmadas/nº de Inseminações)
- Intervalo entre partos (meses)
- Dias abertos (dias parto-concepção)
- Intervalo parto-IA
- Percentagem de distócia
- Percentagem de nados-mortos

## **5. Abordagem comparativa com base na incidência de doenças no puerpério**

Segundo Gibbons (2007), os bovinos “modernos”, nomeadamente bovinos da raça HF, têm vindo a tornar-se cada vez menos robustos, a sua capacidade de adaptação e resistência a doenças tem vindo a diminuir e consequentemente têm vindo a aumentar as suas taxas de refugo.

Vários autores concluíram que a realização de cruzamentos de Holstein-Frísia com outras raças de leite pode levar a um incremento da longevidade e resistência a doenças (Hocking et al., 1988; Dickinson & Touchberry, 1961; Touchberry, 1992, citado por Heins, Hansen & Seykora, 2006a).

Além disso uma das características das raças alternativas em estudo é a robustez e a capacidade de adaptação (OSM, 2008).

O puerpério é uma fase particularmente importante em termos de saúde nos bovinos de leite, com grandes repercussões em termos de bem-estar animal e performance reprodutiva na exploração. O IEP depende do sucesso do estabelecimento das condições necessárias para reiniciar um novo ciclo reprodutivo: restabelecimento da função ovárica e involução uterina adequada (Weaver, 2002). Estes intervalos de tempo dependem de vários factores, entre os quais, as condições de saúde no puerpério, de modo estabelecer uma involução uterina adequada e restabelecimento da função ovárica para reiniciar o novo ciclo reprodutivo (Weaver, 2002).

### **5.1. Ambiente uterino – involução uterina no puerpério**

O estabelecimento ou restabelecimento das condições favoráveis à implantação do conceito, são os principais requisitos em termos de saúde uterina (Leslie, 1983). Sendo o pós-parto a fase com mais importância em termos de saúde uterina nos bovinos (Peter, 2000), o sucesso do ciclo reprodutivo seguinte está dependente da eficiência da sua involução (Weaver, 1992). Imediatamente após o parto o útero dos bovinos apresenta-se medindo cerca de 1 metro de comprimento e um peso de 8 a 10 kg. Em situações fisiológicas, a involução mais marcada ocorre desde a altura do parto até ao 3º dia pós-parto, devido à vasoconstrição e contracções do miométrio que vão diminuindo gradualmente no 4º dia pós-parto (Leslie, 1983). Entre as 3 e as 5 semanas o útero atinge o tamanho de útero não grávido e pelas 8 semanas pós-parto a regeneração do endométrio fica completa (Ghier & Marion, 1968, citado por Mateus, 2003). O útero considera-se involuído quando se verifica simetria dos cornos uterinos à palpação rectal. A involução é mais rápida em vacas primíparas do que nas múltíparas (Jainudeen & Hafez, 2000).

A involução uterina tardia resulta em diminuição de fertilidade e está associada a complicações do parto: distócia, hipocalcémia, retenção placentária e metrite. (Weaver, 1992).

## **5.2 Disfunção ovárica**

Várias situações podem afectar a função ovárica levando a situações de anestro nos bovinos de leite, isto é a ausência de actividade reprodutiva sem manifestações de comportamento de cio. Este tipo de situação pode ocorrer quer durante a puberdade, mas também após o parto (anestro pós-parto) (Jainudeen & Hafez, 2000). O prolongamento de anestro sugere a existência de problemas ováricos (quistos foliculares, tumores da granulosa), desequilíbrios nutricionais (BEN) ou até mesmo a idade (Peter, 2000). No pós-parto, a presença de quistos ováricos é responsável pelo prolongamento do intervalo parto – estro (Peter, 2000) e é considerada uma causa importante de insuficiência reprodutiva (Kesler & Garverick, 1982).

## **5.3. Doenças metabólicas**

### **5.3.1. Cetose clínica e sub-clínica**

A cetose é uma doença metabólica importante nas explorações de bovinos de leite, principalmente nos indivíduos que se distinguem pela elevada produção de leite (Voyoda & Erdogan, 2010), sujeitos a um balanço energético negativo (BEN) nas duas semanas antes do parto e nos primeiros dias de lactação (Peek & Divers, 2008). Caracteriza-se pelo aumento excessivo de corpos cetónicos em situações de BEN em que o organismo responde efectuando a mobilização das reservas corporais (lipólise) sendo libertados deste processo ácidos gordos livres não-esterificados (NEFAS). Na presença de concentrações diminuídas de glucose, a oxidação incompleta dos ácidos gordos a nível do fígado resulta na produção de corpos cetónicos, devido ao excesso de produção de Acetil – CoA que não é metabolizado no ciclo de Krebs (Peek & Divers, 2008; Radostitis, Gay, Constable & Hinchcliff, 2007a)

Radostitis, Gay, Constable e Hinchcliff, (2007a) consideram as diferentes classificações de cetose, tendo em conta a patogenia: cetose primária (independente de outros factores); cetose secundária (doença que provoca a diminuição de ingestão alimentar); cetose alimentar (presença de precursores dos corpos cetónicos na silagem).

A cetose pode ou não manifestar-se clinicamente. Nos casos de cetose clínica os indivíduos podem apresentar sinais clínicos como quebra de produção, depressão, anorexia e, nalguns casos, sinais nervosos (incoordenação, excitação) (Peter, 2000).

A cetose sub-clínica acontece quando as concentrações de corpos cetónicos no sangue (hipercetonémia), urina, leite e outros fluidos corporais aumentam sem manifestações de sinais clínicos (Duffield, 2000 citado por Voyvoda & Erdogan). Em termos práticos, esta

condição refere os animais clinicamente “normais”, mas que apresentam concentrações de beta-hidroxibutirato (BHBA), o corpo cetónico mais comum na cetose bovina, maiores que 1,4 mmol/l nas primeiras semanas de lactação. (Duffield, Lissemore, McBride & Leslie, 2009; Peek and Divers, 2008).

A detecção de animais com corpos cetónicos elevados, permite reconhecer a magnitude de balanço energético negativo no período peri-parto, tendo esta situação impacto não só na performance reprodutiva mas também na diminuição da produção, incidência de doenças infecciosas (metrite e mastite) e risco acrescido de deslocamento do abomaso (Iwersen, Falkenberg, Voigtsberger, Forderung & Heuwieser, 2009).

Duffield, Lissemore, McBride e Leslie (2009) definiram que, valores superiores a 1,2 mmol/l na primeira semana pós-parto e 1,8 mmol/l na segunda semana pós-parto estão relacionados com o aumento do risco de deslocamento de abomaso. Relativamente a doenças infecciosas, as concentrações de BHBA, aumentadas na primeira semana pós-parto, estão associadas com metrites mas não com mastites clínicas, no entanto, identificaram uma associação entre menores rendimentos em termos de produção e valores de BHBA superiores a 1,4 mmol/l nas duas primeiras semanas de lactação.

A determinação dos corpos cetónicos no soro ou plasma é uma alternativa aos testes tradicionais de urina e leite. Estes últimos são mais limitados e detectam apenas o acetoacetato semi-quantitativamente, sendo que, o BHBA, como já foi referido o principal corpo cetónico na cetose bovina (Laffel, 1999, citado por Voyvoda & Erdogan, 2010).

Para determinar os BHBA no sangue, verificou-se que, um dos métodos eficazes e rápidos é a utilização de um aparelho portátil Precision Exceed ® utilizando uma pequena quantidade de sangue, através de colheita na veia coccígea. O aparelho foi concebido para doseamento de corpos cetónicos em humanos, no entanto a sua utilização foi recentemente validada para bovinos (Iwersen et al., 2009; Voyvoda & Erdogan, 2010).

#### **5.4. Mastite e contagem de células somáticas**

Entende-se por mastite, a inflamação do parênquima da glândula mamária, que provoca alterações físicas e químicas no leite assim como alterações patológicas no tecido glandular (Radostitis, Gay, Constable Hinchcliff, 2007b).

Para além das claudicações e problemas reprodutivos, as mastites são consideradas um dos principais problemas de saúde nos bovinos de leite. A elevada incidência de mastites clínicas e mastites sub-clínicas leva a perdas económicas a nível de produção, menor qualidade do leite, custos em tratamentos e refugo precoce (Bar et al. 2008).

Em termos de impacto económico, os custos médios relacionados com as perdas por mastites são de 78 euros por vaca, por ano, apresentando uma larga variação de 17 a 198 euros/vaca/ano. (Huijps, Lam, Hogeveen, 2008).

A contagem de células somáticas (CCS) é um componente de avaliação para a qualidade do leite e é um indicador geral de saúde do úbere e prevalência de mastite clínica e sub-clínica nas explorações, sendo as contagens inferiores a 200.000 cels/ml geralmente indicativas de saúde do úbere (O'Brien, Berry, Kelly, Meaney & Callaghan, 2009).

A utilização de antibióticos para o tratamento de mastites clínicas e redução de CCS, aumenta o risco da presença de resíduos de antibióticos no leite e consequentemente desenvolvimento de resistências que é considerado um problema de Saúde Pública. (Prendiville, Pierce & Buckley, 2010)

Não foram detectadas diferenças significativas quanto à incidência mastite e CCS, em comparações de Holstein e respectivos cruzamentos com outras raças do tipo Jersey, Guernsey, Ayshire e Parda Suíça (Prendiville et al., 2010; VanRanden & Sanders, 2003). VanRanden e Sanders, 2003, detectaram um nível de heterose positivo mas muito baixo para as CCS (1%).

Begley, Buckley, Pierce, Fahey e Mallard (2009) verificaram a existência de superioridade genética de Vermelhas Norueguesas, Montbéliarde (puras) relativamente a HF puras, no que diz respeito à saúde do úbere. No entanto os indivíduos F1 (Vermelha Norueguesa x HF) (Montbéliarde x HF), não apresentaram heterose para este parâmetro, relativamente às raças puras Vermelha Norueguesa e Montbéliarde.

## **6. Abordagem comparativa com base nos parâmetros de produção**

Vários estudos têm sido feitos para avaliar a heterose destes caracteres, assim como métodos comparativos entre HF puras e respectivos cruzamentos com outras raças de leite (Heins, Hansen & Seykora, 2006c; Van Renden & Sanders, 2003).

### **6.1. Produção**

A avaliação da curva de lactação, nos bovinos de leite, é considerada um determinante da avaliação do desempenho produtivo das explorações. Para fins comparativos entre animais e explorações, considera-se o período de lactação de 305 dias, seguido de um período seco de 60 dias. Na 5ª semana de lactação ocorre o máximo de produção (pico de lactação) que se mantém estável durante 3 a 4 semanas (Nunes, 2004). Relativamente às curvas de lactação de HF puras, em relação a indivíduos resultantes de cruzamentos de HF com Montbéliarde, Normande e Raças Nórdicas Vermelhas, verifica-se que as HF puras apresentam níveis de produção diários mais elevados ao longo do ciclo do que as restantes raças, sendo a média das

suas produções totais ao 305 dias mais elevadas (9757 kg) que os respectivos cruzamentos (Heins et al., 2006c).

## 6.2. Gordura e proteína

Em cruzamentos de HF com raças Francesas e Vermelhas Nórdicas, Heins, Hansen e Seykora (2006c), constataram, relativamente aos parâmetros de quantidade, que, a média de produção total nas HF foi superior aos restantes grupos de raças, assim como a proteína total e gordura total (Tabela 6). Apenas a diferença em termos de gordura total e proteína total, entre o grupo HF e F1 Vermelhas Nórdicas x HF não foi estatisticamente significativa. O grupo HF obteve a média mais baixa de percentagem de gordura e percentagem de proteína e as F1 Normande x HF as mais elevadas.

Tabela 6: Parâmetros produtivos na raça HF e respectivos cruzamentos com raças francesas e nórdicas. (Heins et al., 2006c).

Raças	n	Produção	Gordura		Proteína	
		total (kg)	total (kg)	%	total (kg)	%
<b>Holstein</b>	380	9757	346	3,55	651	3,13
<b>Normande – HF</b>	245	8530	319	3,74	596	3,24
<b>Montbéliarde – HF</b>	494	9161	334	3,64	627	3,2
<b>Vermelha Nórdica-HF</b>	328	9281	340	3,66	637	3,2

VanRenden & Sanders (2003), em cruzamentos de HF com Jersey, Guernsey, Ayrshire e Parda Suíça, obtiveram heteroses de 4,4 % em gordura total e 4,1 % na proteína total, em relação à raça pura HF.

## 7. Abordagem comparativa - relação animal-homem e temperamento entre os diferentes grupos genéticos

Em bovinos de leite, os caracteres comportamentais, podem dividir-se nas seguintes categorias: comportamento alimentar, reprodutivo, materno social, de aprendizagem e interações animal-homem. (Schutz & Pajor, 2001).

Coloca-se a seguinte questão: ao introduzir-se novas abordagens de selecção com o intuito de melhorar as características funcionais, utilizando raças mais robustas, face à tradicional HF, quais as repercussões no temperamento dos animais (Gibbons, 2007)?

O temperamento dos animais, mesmo sendo avaliado subjectivamente e retrospectivamente representa uma medida de interacção animal-homem. A relação animal-homem numa exploração é uma categoria comportamental com informações relevantes em termos de condições de manejo e bem-estar animal (Waiblinger, Menke & Folsh, 2003). É uma das características mais avaliadas em bovinos e está relacionada com a facilidade de manejo, eficiência na produção e segurança dos tratadores. Os factores que podem influenciar a relação animal-homem dependem da predisposição genética, condições de manejo, entre as quais experiência com o contacto humano (Rushen, Munksgaardb, Passilé, Jensenb, Thodberg, 1999). A heritabilidade para o comportamento ronda os valores 0,08 a 0,25, com diferenças sobretudo a nível de diferentes raças (Schutz & Pajor, 2001).

Alguns estudos realizados em suínos identificaram outros factores como a idade e o comportamento hierárquico (Waiblinger, Menke & Coleman, 2002). As experiências negativas conduzem ao medo e a outras reacções fisiológicas relacionadas com o stress, tendo efeitos nefastos na produção e saúde, assim como risco acrescido de situações traumáticas quer para os próprios animais como os respectivos tratadores. Por sua vez, experiências positivas contribuem para o bem-estar e saúde animal (Waiblinger et al., 2003). Se o factor genética tiver alguma influência na relação-animal homem, nos casos em que a influência é positiva, irá facilitar as acções de manejo evitando as experiências negativas para ambos (animal e homem).

### **7.1. Distância de Fuga**

A avaliação das interacções sociais entre o tratador e os respectivos animais durante as actividades de manejo é o reflexo do comportamento entre ambos.

Métodos como a observação dos tratadores durante as actividades na exploração, pode influenciar a atitude destes no momento da avaliação, assim como, questionários relativos à relação com os animais podem incluir determinadas afirmações que nem sempre são verdadeiras (Waiblinger et al., 2003). Os testes de reacção comportamental perante a presença do homem, podem ser mais significativos que a simples observação dos tratadores ou mesmo questionários. Um desses testes de reacção comportamental é a reacção de fuga-aproximação (Rousing, Bonde, Badsberg & Sorensen, 2004; Waiblinger et al. 2003). Waiblinger, Menke e Coleman (2002) determinaram a relação entre o comportamento dos tratadores e dos animais com base nos testes de fuga-aproximação, em diferentes explorações. A distância de fuga-aproximação reflecte as experiências dos animais com os tratadores e o nível de medo e ansiedade dos animais. (Waiblinger et al., 2002).

Consideram-se os seguintes métodos para avaliação da relação animal homem: distância de fuga na manjedoura, distância de fuga nos estábulos, comportamento de aproximação perante uma pessoa desconhecida e comportamento de aproximação perante um novo objecto.

Os testes de distância de fuga (manjedoura e estábulo) consistem na aproximação gradual, a um só animal (um passo por segundo), com um dos braços a fazer um ângulo de 45°. No momento em que o animal se afasta, determina-se a distância entre o operador e o animal (Waiblinger et al., 2003).

O teste de comportamento de aproximação pode ser feito perante uma nova pessoa ou perante um objecto e consiste na permanência da pessoa ou objecto num local central do estábulo durante cerca de 15 minutos. Se seguida contabiliza-se o número de animais, que, ao começar o teste estavam em estação e se aproximaram do objecto até o tocar (Waiblinger, et al., 2003).

## **7.2. Temperamento e resposta ao stress na ordenha (Anexo 1)**

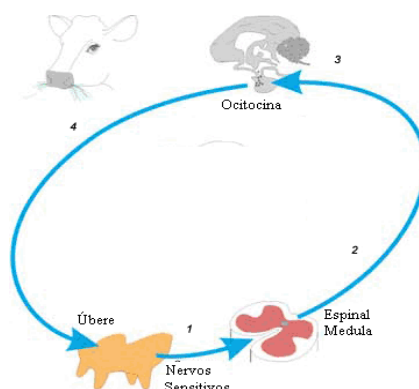
Os problemas comportamentais, relacionados com processo de ordenha, são particularmente comuns em vacas primíparas, principalmente nos primeiros dias de lactação.

O procedimento da ordenha envolve diversos factores de stress incluindo a novidade e as interacções com o homem. (Van Reenen et al., 2002). As reacções de medo do ordenhador e desconforto com os procedimentos da ordenha podem tornar este processo desconfortável para os animais, constituindo um dos potenciais problemas de bem-estar nas explorações de bovinos de leite (Pastel et al., 2006).

Também os mecanismos de ejeção de leite constituem um problema em vacas de primeira lactação nos primeiros dias lactação. (Van Reenen et al., 2002). A ejeção contínua de leite depende da presença de concentrações elevadas de ocitocina durante toda a ordenha (Bruckmaier & Blum, 1998), sendo a sua produção mediada pelo estímulo de sucção provocado pela ordenha. (Nunes, 2004). A Figura 6 explica mecanismo fisiológico de ejeção de leite nos bovinos.



Figura 6. Esquema de regulação neuro-endócrina do mecanismo de ejeção de leite. disponível em: [http://www.delavalus.com/Dairy\\_Knowledge/EfficientMilking/Milking\\_Technology.htm](http://www.delavalus.com/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/Milking_Technology.htm)



Qualquer perturbação da ejeção de leite pode interromper a remoção de leite necessária em cada ordenha. Este fenómeno é provocado pela inibição da libertação de ocitocina pelo sistema nervoso ou inibição periférica dos efeitos da ocitocina na glândula mamária. (Bruckmaier & Blum, 1998).

A inibição periférica é induzida por concentrações elevadas de catecolaminas que estimulam os receptores ao nível da glândula, aumentando a resistência dos ductos. A inibição da libertação de ocitocina pelo sistema nervoso tem sido observada em vacas primíparas imediatamente após o parto, na presença de ambientes não familiares. Nesta situação as concentrações de beta-endorfinas e cortisol encontram-se elevadas. (Bruckmaier & Blum, 1998).

Vários estudos têm sido feitos para avaliar a resposta ao stress na ordenha em diferentes circunstâncias: respostas individuais em primíparas (Van Reenen, et al., 2002), diferenças entre o método tradicional de ordenha mecânica e ordenha automática / robótica (Hopster et al., 2002), assim como na avaliação de relação entre os tratadores e os animais em diferentes explorações. (Waibilinger et al., 2002).

Hopster et al., comparou as respostas ao stress utilizando o seguinte esquema:

- Avaliação do temperamento
- Frequência Cardíaca
- Cortisol plasmático
- Catecolaminas plasmáticas
- Ocitocina plasmática

Um método simples de avaliar o temperamento durante a ordenha, utilizado por vários autores (Pastell et al., 2006; Rousing et al., 2004; Wenzel, Schonreiter-Fischer & Unshelm, 2003), foi a avaliação da frequência de passos e patadas durante o processo de ordenha (stepping and kicking behaviour). Este método é reflexo da reacção dos animais (medo e ansiedade) perante a presença humana e processo de ordenha, (Rousing et al., 2004) estado de saúde do animal, no que diz respeito a claudicação e lesões nos tetos (Fregonesi & Leaver, 2001, citado por Rousing et al., 2001) ou mesmo funcionamento incorrecto da máquina de ordenha (excesso de vácuo) (Rousing et al., 2004).

A existência de uma relação entre os factores fisiológicos comportamentais relacionados com a ordenha e os parâmetros de produção seria uma informação importante na prática de produção de leite. A título de exemplo, esta relação poderia permitir efectuar uma previsão do grau de dificuldade de manejo na ordenha e tempo de ordenha. A definição das diferenças comportamentais entre animais pode ser também utilizada em bases de selecção genética (Schutz and Pajor, 2001; Viking Genetics 2010a)

Alguns autores utilizaram a avaliação da relação de parâmetros produtivos (velocidade de ordenha, fracção de leite residual, pico de fluxo de leite) da respectiva ordenha, com os determinantes da resposta ao stress (Van Reenen et al., 2002), no entanto, não se verificou qualquer relação entre ambos, com excepção da frequência cardíaca.

Várias formas de avaliar a velocidade de ordenha têm sido referenciadas: avaliações subjectivas, produção por minuto, pico de fluxo de leite, média de fluxo de leite e tempo total de ordenha (Meyer & Burnside, 1987).

A facilidade e velocidade de ordenha têm um impacto importante para explorações em termos de manejo na unidade de ordenha mas também são características auxiliares consideradas em vários programas de selecção genética (Meyer & Burnside, 1987), por isso vários autores determinaram a heritabilidade e correlações genéticas para estas características (Meyer & Burnside, 1987; Resing & Ruten, 2005).

Relativamente ao temperamento de ordenha e velocidade de ordenha Resing e Ruten (2005), determinaram a heritabilidade e as respectivas correlações genéticas. A heritabilidade para a velocidade de ordenha obtida foi elevada (0,28), ao contrário da heritabilidade para o temperamento (0,07). Meyer e Burnside (1987), obteve valores entre 0,11 e 0,21 para a heritabilidade da velocidade de ordenha. Resing e Ruten (2005) realçam ainda que as correlações genéticas entre a velocidade de ordenha e o temperamento são quase nulas, o que significa que em termos genéticos estas consideram-se independentes.

Um aspecto importante a referir relativamente à velocidade de ordenha, é a sua relação com as mastites e CCS, respectivas implicações no bem-estar. Resing e Ruten (2005) salienta que, seria de esperar uma correlação negativa entre a velocidade de ordenha e as condições de saúde do úbere, mas ao mesmo tempo velocidades de ordenha muito baixas podem ter também efeitos negativos em termos de saúde do úbere, devido ao stress mecânico prolongado e ejeção incompleta do leite, assim como maior tempo adicional de trabalho pelos ordenhadores. Luttinen e Juga (1997) ao determinar as correlações genéticas entre as características de ordenha e saúde do úbere, concluíram que vacas mais rápidas tiveram maiores CCS, no entanto obtiveram um menor número de mastites clínicas. Já as vacas com velocidades de ordenha muito baixas têm maior percentagem de mastites clínicas. Ou seja esta é uma característica importante em termos de selecção, pois nem vacas demasiado lentas ou demasiado rápidas são desejadas (Luttinen & Juga, 1997).

### **III – ESTUDO DE CASO – Performance reprodutiva, produtiva e características comportamentais de vacas Holstein-Frísia em comparação com os respectivos cruzamentos com Montbéliarde e Vermelha Sueca.**

#### **1. Objectivos**

A presente dissertação teve como objectivo a realização de uma comparação, entre diferentes grupos genéticos, numa situação de *crossbreeding*, de forma a promover metodologias alternativas de selecção nas explorações de bovinos de leite, que se encontram numa situação de consanguinidade e pressão de selecção crescentes. Verificaram-se os efeitos de *crossbreeding* sobre a performance reprodutiva (índices de fertilidade, distócia e incidência de nados mortos), na incidência das principais doenças no pós-parto e sobre parâmetros relacionados com a produção.

Pretendeu-se também, avaliar as respostas comportamentais dos animais a ambientes e contextos não familiares nomeadamente a ordenha (relação animal-Homem. Tendo em conta a importância do temperamento dos bovinos em questões de bem-estar animal e segurança dos humanos, um dos objectivos do trabalho foi avaliar os efeitos destes cruzamentos, sobre esta característica.

#### **2. Descrição da exploração em estudo**

O trabalho de investigação foi realizado numa exploração de bovinos de leite, em regime de produção intensivo, com cerca de 200 vacas em lactação, média de produção de leite de 35 kg/dia/vaca (antes da realização dos cruzamentos) em 3 ordenhas diárias (05:00 h, 13:00 h e 20:00 h). Além da produção de leite, existe também um sector de engorda de vitelos machos até aos 8 meses para produção de “vitelão”.

As vacas em produção encontram-se distribuídas por 5 parques tendo em conta diversos critérios (nível produtivo, CCS e dias de lactação). Além dos parques de produção, existem também parques específicos para vacas recém-paridas; vacas com mastite clínica; vacas no período de pré-secagem; parque das vacas secas e uma maternidade para vacas no período do peri-parto. A alimentação é baseada no conceito de mistura total e é constituída por silagem de milho e/ou azevém (podendo estas variar consoante as disponibilidades) e concentrado. A alimentação é distribuída através de sistema *unifeed*, 2 vezes por dia nas vacas em lactação e uma vez por dia nas vacas em período seco.

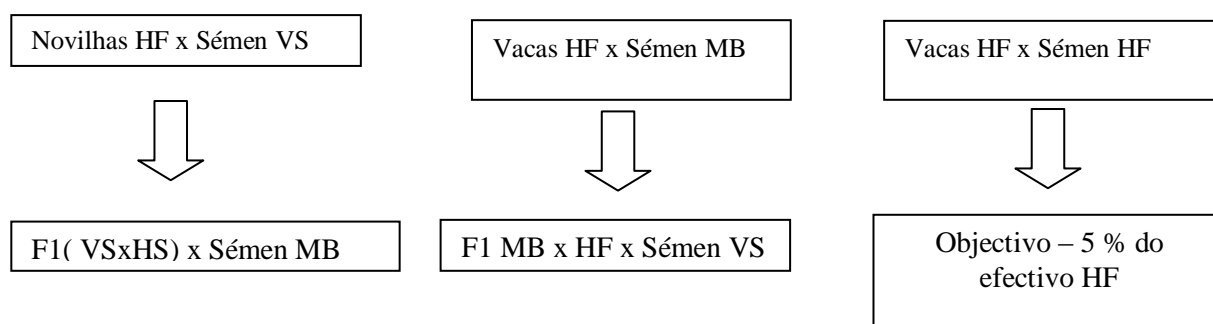
As novilhas de substituição, a partir dos 6 meses têm acesso à pastagem à base de gramíneas das espécies *Lolium perenne* e *Dactylis glomerata* e leguminosas das espécies *Trifolium fragiferum* e *Trifolium alexandrinum*. À noite regressam ao parque tendo concentrado e feno à

disposição. São inseminadas com cerca de 14 a 15 meses de idade e passam para os parques de cubículos aos 5 meses de gestação, sendo a sua alimentação idêntica à das vacas em período seco.

As respectivas produções, as inseminações efectuadas, datas de nascimento, procedimentos médico-veterinários (vacinações, desparasitações, cirurgias, diagnósticos reprodutivos entre outros) são registados no programa informático de suporte e gestão da exploração, DairyPlan C21 ®.

Até 2007, a raça Holstein-Frísia (HF) era exclusiva, resultando das importações de sémen de touros Holstein americanos. A partir desta data, o produtor introduziu sémen proveniente de touros de outras raças de aptidão de produção de leite, para inseminar as fêmeas reprodutoras da exploração, com objectivo de iniciar um programa de *crossbreeding*, com as raças Montbéliarde e Vermelha Sueca. O esquema utilizado foi o seguinte (Figura 7):

Figura 7. Esquema inicial de cruzamentos na exploração em estudo.



### 3. Animais em estudo

Para a realização do estudo, utilizaram-se fêmeas primíparas dos 3 grupos genéticos, constituídos por 30 HF, 32 MBxHF e 28 VSxHF, em que os primeiros partos decorreram de Março de 2010 a Abril de 2011. A amostra foi seleccionada com base nas informações do programa informático da exploração, incluindo todas aquelas cuja primeira lactação se iniciasse no período referido.

Como as inseminações das vacas puras decorreram em 2007, no ano de 2008, nasceram os primeiros vitelos cruzados e em 2009, foram inseminadas as primeiras fêmeas F1 e os seus partos e respectivas lactações começaram em Março de 2010.

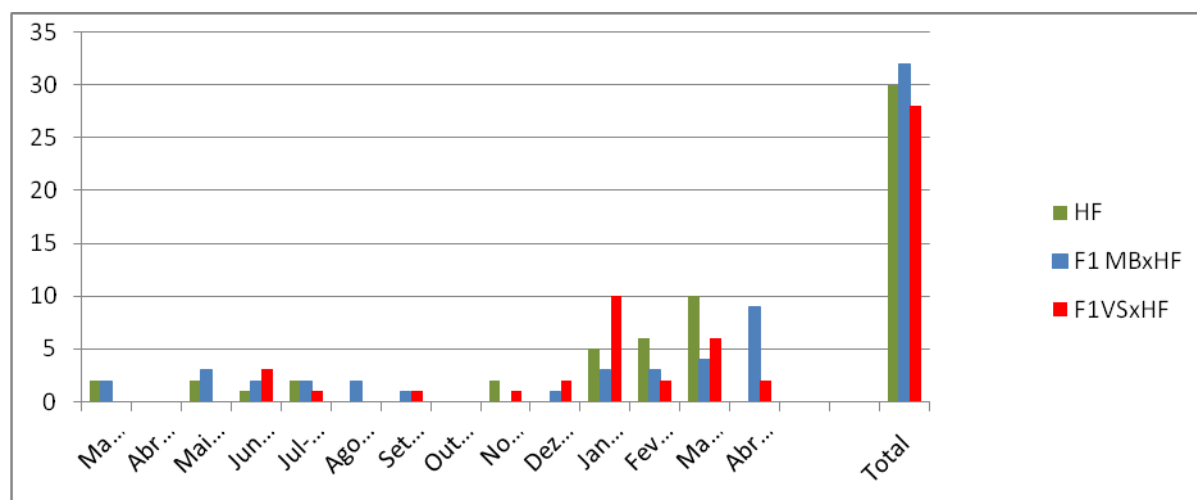
A tabela 7 indica a raça do sémen utilizado nas novilhas puras e cruzadas em estudo no primeiro ciclo reprodutivo. As fêmeas F1 (MBxHF) foram inseminadas apenas por sémen VS, dando origem um indivíduo F2 [(MBxHF)xVS] e vice-versa.

Tabela 7. Esquema de inseminações das novilhas em estudo (1º ciclo reprodutivo).

Raça Materna (Amostra)					Total
Raça paterna		HF	F1 MB x HF	F1 VS x HF	
	HF	3	0	0	3
	MB	5	0	28	33
	VS	22	32	0	54
Total		30	32	28	

O gráfico 3 representa a distribuição dos seus partos ao longo dos meses, desde Março de 2010 a Abril 2011.

Gráfico 3. Distribuição dos partos ao longo dos meses das vacas primíparas HF, F1MBxHF e F1VSxHF



A diferenciação entre os diferentes grupos genéticos foi realizada, também, com base no programa informático e posterior confirmação por observação directa dos animais. As diferentes raças eram facilmente identificáveis, não só pelas características físicas peculiares (fig.8 e fig.9) mas também pela identificação realizada pelo produtor através da colocação de brincos circulares de diferentes cores: MBxHF, brinco azul e VSxMB brinco vermelho.

Figura 8. Novilha Montbéliarde x Holstein-Frísia, sendo evidente o brinco azul na orelha esquerda (fotografia original do autor)



Figura 9. Novilhas Vermelha Sueca x Holstein-Frísia. Esquerda - pelagem vermelha, direita pelagem preta (fotografia original do autor)



O período de investigação decorreu desde Setembro de 2010 até Abril de 2011, o que comprometeu a dimensão da amostra de primíparas, no que diz respeito a dados recolhidos em acompanhamentos directos em datas específicas do pós-parto. Quanto a dados retrospectivos, principalmente os dados relacionados com os parâmetros reprodutivos para a primeira gestação, foi possível utilizar uma amostra maior.

#### **4. Desenho experimental**

##### **4.1. Índices de fertilidade**

Esta primeira abordagem consistiu no estudo retrospectivo dos parâmetros relacionados com a fertilidade, incidência de nados mortos e facilidade de parto.

Para a avaliação de fertilidade na amostra de primíparas, nas diferentes raças utilizaram-se os seguintes índices:

1. Idade primeira inseminação
2. Índice de concepção individual (ICI) –  $(1/IA's \text{ individuo}) \times 100$

3. Índice de concepção global (ICG) –  $(n^{\circ} \text{ fêmeas gestantes/IA totais}) \times 100$
4. Índice de concepção ao primeiro serviço (ICPS) –  $(\text{Fêmeas gestantes } 1^{\circ} \text{ serviço} / \text{Fêmeas cobertas } 1^{\circ} \text{ serviço}) \times 100$
5. Idade ao primeiro parto
6. Intervalo Parto-IA
7. Dias abertos
8. IEP – intervalo entre partos ( $1^{\circ}$  parto –  $2^{\circ}$  parto)

Estes intervalos foram estimados tendo em conta as datas registadas no programa informático da exploração, tais como datas de nascimento, datas de inseminações, gestações confirmadas e datas de parto. Os diagnósticos de gestação eram realizados pelo médico veterinário (MV) responsável pela exploração por volta dos 30 dias pós-inseminação, por ultra-sonografia trans-rectal.

Como já foi referido, para os dados relativos à primeira gestação, isto é, idade à primeira inseminação, idade ao primeiro parto, número de IA por concepção e índice de concepção ao primeiro serviço ( $1^{\text{a}}$  gestação), foi possível realizar o estudo retrospectivo a todas as primíparas da amostra. No entanto, para os resultados relativos ao período voluntário de espera, dias abertos e intervalo entre partos, obteve-se uma amostra mais reduzida devido à impossibilidade de confirmar a gestação durante o período de investigação.

#### **4.2. Distócia**

Os partos foram classificados e registados pelos tratadores, no programa informático da exploração, tendo em conta as seguintes citações: “parto fácil, parto sem ajuda, parto assistido e parto difícil”. Para análise estatística definiram-se as seguintes classificações:

Nível 1 – parto fácil, sem assistência (“parto fácil, parto sem ajuda”).

Nível 2 – parto com assistência mas sem dificuldade relevante (“parto assistido”).

Nível 3 – parto difícil com recurso a manobras obstétricas ou extractor mecânico (“parto difícil”).

Para análise estatística, consideraram-se os níveis 1 e 2 como variável “ausência ou mínima dificuldade de parto” e os níveis 3 como “presença de dificuldade efectiva ao parto”, para diferenciar o grau de distócia entre as raças e comparar com a classificação efectuada por Heins, Hansen e Seykora (2006b).



#### **4.3. Nados-mortos**

A avaliação da incidência de nados-mortos na amostra em causa, foi realizada com base no registo das informações do livro de registo de nascimentos 2010 e 2011 da respectiva exploração, onde eram registados os nascimentos dos vitelos, assim como, nados mortos e vitelos mortos após 24 horas do parto. O registo era feito tendo em conta o mês de nascimento, número de exploração da mãe, número de exploração do vitelo e sexo.

Para o estudo consideram-se os diferentes grupos V – vitelo vivo, NM- nado-morto.

Nestes dois dados (distócia e nados-mortos), registou-se também a raça do touro com a qual a novilha foi inseminada para verificar a influência da raça paterna na incidência de nados-mortos e distócia (tabela 7).

#### **4.4. Doenças puerpério**

Durante o período pós-parto, ou seja, até iniciar o ciclo reprodutivo seguinte (IA seguinte) foi feito o registo de determinadas doenças, consideradas importantes em bovinos de leite, no que diz respeito às condições de saúde reprodutiva no puerpério (doenças do aparelho reprodutor: metrite e retenção placentária) e doenças metabólicas.

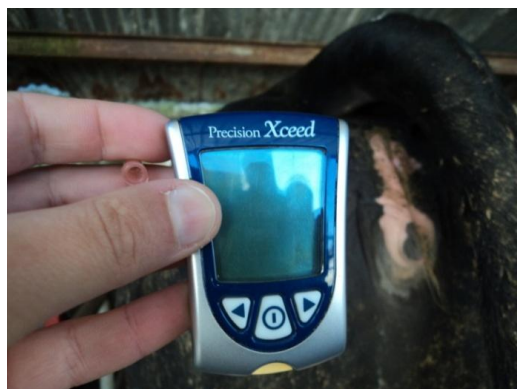
Considerou-se essencialmente a incidência de RP e metrite. Nos primeiros dias, ou seja 1 a 4 dias pós parto (este período de tempo poderia variar consoante o estado de saúde do animal), as vacas eram incluídas num parque em que o leite produzido não era aproveitado para consumo humano. Nestes animais era realizado, por rotina, o registo da temperatura rectal, anotadas as principais alterações às condições de saúde (presença de RP, lesões do pós-parto etc) e respectivos tratamentos aplicados.

Era também realizado um exame ginecológico no peri-parto, pelo MV responsável, para verificar as condições de saúde reprodutiva para a próxima inseminação, ou seja diagnóstico de metrites, endometrites, quistos ováricos ou presença de estruturas foliculares favoráveis ao desenvolvimento normal do ciclo reprodutivo.

Uma das doenças metabólicas no PPP, avaliada neste estudo, foi a incidência de cetose sub-clínica na segunda semana de lactação (D8 a D15). Para isso, determinou-se a concentração de corpos cetónicos no sangue, nomeadamente o BHBA, admitindo que, valores superiores a 1,4 mmol/l, indicam a presença de cetose sub-clínica (Peek & Divers, 2008).

Os testes eram realizados entre o dia 8 e o dia 15 de lactação, em que se recolhia uma pequena quantidade de sangue na veia coccígea e doseamento imediato no aparelho portátil Precision Xceed® (fig. 10) e fita descartável de corpos cetónicos.

Figura 10. Realização do doseamento rápido do Betahidroxibutirato no sangue com o aparelho Precision Xceed® (fotografia original do autor).



Os resultados foram registados quantitativamente, na unidade mmol/l.

#### **4.5. Mastite e CCS**

Durante a ordenha, era feita o exame dos primeiros jactos de leite e visualização do aspecto do úbere e tetos pelos ordenhadores. A identificação de mastites na exploração é realizada tendo em conta as alterações observadas nestes processos de rotina em conjunto com resultados positivos ao Teste Californiano de Mastites (TCM's).

As fêmeas identificadas com mastite eram então separadas para o grupo 6 - vacas com mastite, sendo observadas e tratadas diariamente após a primeira ordenha do dia.

Durante o tempo de investigação foram realizados na exploração 3 contrastes leiteiros não oficiais de rotina, ao efectivo da exploração, nos meses Dezembro, Fevereiro e Março. Para fins comparativos nos diferentes grupos genéticos, utilizaram-se os resultados de CCS individuais, obtidos nestes contrastes, apresentados sobre a forma de células/ml e converteu-se o valor em unidades para o respectivo logaritmo de 10:  $\log^{10}(\text{CCS/ml})$ . Algumas vacas que foram diagnosticadas com mastite clínica não foram incluídas nos contrastes realizados, ou por motivos de refugo, ou por não terem recuperado clinicamente da mastite nas recolhas para os contrastes

#### **Parâmetros Produtivos**

Para avaliar produção total, em termos comparativos, o ideal seria utilizar a produção aos 305 dias, no entanto, tendo em conta a impossibilidade de não existir amostragem suficiente de fêmeas F1, a completar ciclos de lactação, durante o tempo de investigação, registou-se, a partir do programa informático, a produção aos 100 dias de lactação em kg.

Para os parâmetros de composição de leite, gordura (%) e proteína (%), utilizaram-se a média dos três contrastes realizados.

#### **4.6. Relação animal-Homem**

Para avaliar a influência genética na relação animal-Homem, em condições de manejo e idade constantes, utilizaram-se dois tipos de testes, a avaliação da distância de fuga na manjedoura e a avaliação de respostas ao stress durante a ordenha.

##### **4.6.1. Distância de fuga**

A avaliação da distância de fuga era realizada uma vez por semana por volta das 11 horas da manhã, após distribuição do alimento, aos animais que se encontravam na manjedoura nessa altura. O operador foi sempre o mesmo, dentro do possível vestido da mesma forma. O processo iniciava-se no eixo central do corredor entre as manjedouras, identificando-se as vacas em teste que se encontravam na manjedoura naquela altura. Após identificar cada animal, era feita a aproximação gradual ao animal (um passo por segundo) com um dos braços ligeiramente levantados de modo a fazer um ângulo de 45° com o eixo corporal do operador (Figura 11).

Figura 11. Realização do teste de distância de fuga na manjedoura.



Se o animal se afastasse estimava-se e registava-se a distância entre o animal e o homem no momento da fuga, em metros (p.e. 0,5 metros, 1 metro). Caso o animal permanecesse quieto e se deixasse tocar considerava-se a distância de fuga igual a 0. Este teste também poderia ser feito no interior dos parques, idêntico ao anterior, realizado a vacas que se encontrassem em estação.

Foram realizadas cerca de 3 medições a cada animal em dias diferentes, e para análise estatística considerou-se a média das 3 medições efectuadas, agrupando-as na seguinte escala:

1. Toque – 0 a 0,2

2. Menos de um metro - 0,2 a 1 inclusive
3. Mais de um metro

Para auxiliar a análise estatística considerou-se a seguinte circunstância:

1. “Tolerância ao toque” – “toque”
2. “Intolerância ao toque” – “menos de um metro” e “mais de um metro”

#### **4.6.2. Temperamento e resposta ao stress na ordenha (Anexo 2).**

A avaliação de resposta ao stress na ordenha foi realizada em dois tempos. O primeiro tempo, designado por D4, nos primeiros dias de lactação (realizado entre o dia 3 e 10 de lactação) e o segundo tempo, designado por D100, numa fase mais tardia da lactação (realizado entre o dia 80 e 100). Utilizou-se a ordenha das 13:00 h para realizar os testes.

Na avaliação comportamental registou-se o número de patadas e passos nas respectivas ordenhas (*stepping and kicking behaviour*), tempo de ordenha e ainda quantidade de leite produzido. Para análise estatística utilizou-se a frequência relativa de passos e patadas, isto é passos por minuto e patadas por minuto, assim como o fluxo de leite (litros por minuto).

#### **4.8. Registo e tratamento de dados**

Inicialmente construiu-se uma base de dados em ficheiro do programa Excel® (2007), com os respectivos números de identificação e outras informações retrospectivas com interesse. Os dados recolhidos nos testes foram registados em diferentes fichas de teste para cada parâmetro (ficha de corpos cetónicos, ficha temperamento D4, ficha temperamento D100 (Anexo 2), ficha distância de fuga), e posterior registo na mesma base de dados Excel®.

Os gráficos e tabelas de frequências foram construídos com base no programa Excel ® (2007).

Recorreu-se ao programa R® para construção de gráficos *boxplot* e análise estatística.

Os objectivos principais dos testes estatísticos foram encontrar diferenças entre a variável raça e as restantes variáveis e comparar os grupos genéticos entre si. Realizaram-se também testes para verificar a influência da raça paterna na incidência de distócia e nados mortos nos partos das fêmeas em estudo, testes para verificar a relação da incidência de metrite e RP com o intervalo parto - IA, dias abertos e IEP. Para os parâmetros registados sobre a forma de dados quantitativos utilizou-se o método de análise de variância simples (ANOVA) de forma a determinar o nível de significância estatística (p) para os diferentes grupos genéticos entre si: índices de fertilidade (excepto índice de concepção primeiro serviço), corpos cetónicos,  $\log^{10}$ (CCS), dados produtivos, dados relativos ao temperamento da ordenha. Para os parâmetros registados sobre a forma de dados qualitativos (por exemplo, “S”: presença de

doença; “N” ausência de doença), utilizou-se o método Qui-quadrado (comparações duas a duas) com posterior aplicação do teste de Fisher, a partir do qual se determinou o valor de p: incidência de RP e metrite, incidência de mastites clínicas e distância de fuga, distócia e nados-mortos.

Nos índices de concepção utilizaram-se duas formas de tratamento. Utilizou-se o cálculo do ICG para representação gráfica, mas para determinar o seu nível de significância utilizaram-se os ICI no teste de análise de variância simples. Para o ICPS, considerou-se ICI =100 % como “S” e ICI < 100 % como “N”, para realizar os testes de Qui-quadrado e teste de Fisher.

Para verificar a influência da raça paterna na distócia e nados mortos utilizou-se a análise de qui-quadrado, de modo a obter o valor de significância através do teste de Fisher.

Para verificar a influência da incidência de metrite e RP no intervalo parto-IA, dias abertos e IEP utilizou-se a análise de variância simples (ANOVA).

Para todos os testes considerou-se o intervalo de confiança de 95 %, sendo o nível de significância  $p < 0,05$ , para considerar as diferenças entre os grupos genéticos. Registaram-se os valores de p mínimos obtidos entre comparações.

## 5. Resultados

### 5.1. Performance Reprodutiva

#### 5.1.1. Índices de fertilidade

A tabela 8 representa os índices de fertilidade relativos ao primeiro ciclo reprodutivo, idade primeira inseminação (dias) e idade primeiro parto (meses). Os dados estão representados sob a forma de média e desvio padrão dos mesmos ( $\chi \pm \sigma$ ).

Tabela 8 – Média ( $\chi$ ) e desvio padrão ( $\sigma$ ) - Idade à primeira IA (meses), idade ao primeiro parto (meses) e intervalo 1ª IA – IA fecundante

	HF n=30	F1 (MBxHF) n=32	F1(VSxHF) n=28	Valores de p
<b>Idade 1ª IA (meses)</b> $\chi \pm \sigma$ *	14,7 $\pm$ 2,1	13,90 $\pm$ 2,6	14,9 $\pm$ 1,56	0,13
<b>Idade ao primeiro parto</b> (meses) $\chi \pm \sigma$ **	24,55 $\pm$ 2,59	23,65 $\pm$ 2,65	24,75 $\pm$ 1,62	0,158
<b>Intervalo 1ª IA – IA</b> <b>Fecundante (dias) ***</b>	29,53	28,75	28,4	0,98

Para o segundo ciclo reprodutivo considerou-se o período voluntário de espera (dias), número de dias abertos e IEP (meses) (Tabela 9).

Tabela 9 – Média ( $\chi$ ) e desvio padrão ( $\sigma$ )- Período Voluntário de Espera, dias abertos e intervalo entre partos - 2º ciclo reprodutivo

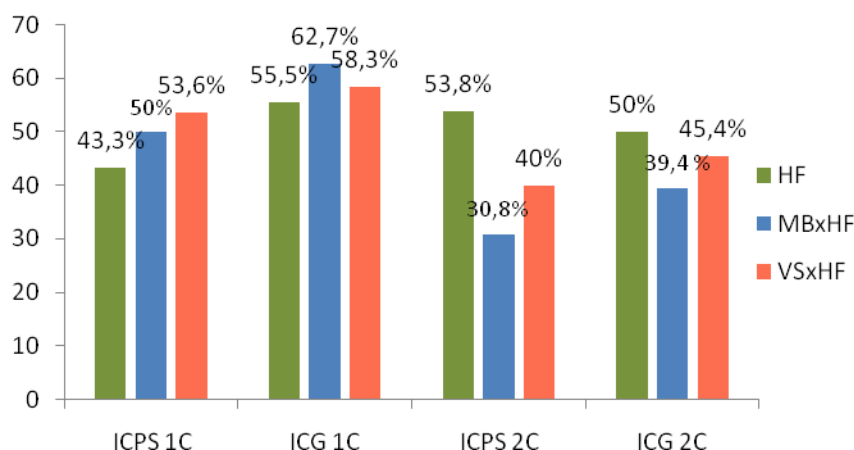
	HF n=20	F1 (MBxHF) n=19	F1(VSxHF) n=16	Valor p
<b>Parto-IA (dias)</b>				
$\chi \pm \sigma$	62,45 $\pm$ 16,39*	56,6 $\pm$ 20,61	55,06 $\pm$ 14,51*	0,4
	HF n=13	F1 (MBxHF) n=13	F1(VSxHF) n=5	Valor p
<b>Dias abertos</b>				
$\chi \pm \sigma$	92,15 $\pm$ 54,64	97,69 $\pm$ 56,22**	81,00 $\pm$ 39,54**	0,83
<b>IEP (meses)</b>				
$\chi \pm \sigma$	12,46 $\pm$ 1,91	12,6 $\pm$ 1,86***	11,9 $\pm$ 1,02***	0,72

Os grupos genéticos não diferiram entre si, no que diz respeito ao intervalo parto-IA, nº de dias abertos e IEP.

O cálculo dos índices de concepção relativos ao primeiro e segundo ciclo reprodutivo estão representados no Gráfico 4, ou seja, índice de concepção ao primeiro serviço e índice de concepção global para o 1º ciclo e 2º ciclo reprodutivos.

- 1- ICPS 1C – Índice de concepção primeiro serviço, 1º ciclo reprodutivo (%)
- 2- ICG 1C – Índice de concepção global, 1º ciclo reprodutivo (%)
- 3- ICPS2C – Índice de concepção primeiro serviço, 2º ciclo reprodutivo (%)
- 4- ICG2C – Índice de concepção global, 2º ciclo reprodutivo (%)

Gráfico 4- Índices de concepção nos diferentes grupos genéticos



\*ICPS1C p= 0,65    \*\*ICG1C p = 0,72

\*\*\* ICPS 2C (HF – MBxHF)= 0,4    \*\*\*\*\*ICG 2C (HF – MBxHF) = 0,77

### 5.1.2. Distócia e nados-mortos

A tabela 10 indica a percentagem de distócia (grau 2 e 3) e de nados mortos, tendo em conta a influência da raça materna e raça paterna. Apenas 3 novilhas da raça HF foram inseminadas com sêmen de touros da mesma. A % de distócia no geral, para o nível 2 foi de 11 % e de 3,3 % para o nível 3.

Tabela 10. Distócia grau 2 e grau 3 (%) e nados-mortos (%): influência de genótipo paterno e materno

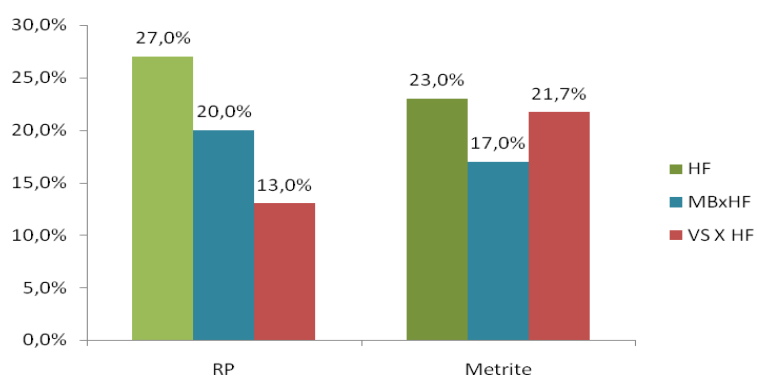
Distócia grau 2		Raça Materna			Total
Raça paterna		HF (n=30)	MBx HF (n=32)	VSxHF (n=28)	
	HF (n=3)	0%	-----	-----	0 % **
	MB (n=33)	0 % (n=5)	-----	14,3 % (n=28)	12,1% **
	VS (n=54)	9% (n=22)	12,5 % (n=32)	-----	11,1% **
<b>Total</b>		<b>6,7%*</b>	<b>12,5%</b>	<b>14,3%*</b>	<b>11%</b>
*p <sub>♀</sub> 0,5 ; ** p <sub>♂</sub> =1					
Distócia grau 3		Raça Materna			Total
Raça paterna		HF (n=30)	MBx HF (n=32)	VSxHF (n=28)	
	HF (n=3)	0% (n=3)	-----	-----	0 %
	MB (n=33)	0 (n=5)	-----	0% (n=28)	0 %
	VS (n=54)	9% (n=22)	3,13% (n=32)	0%	5,6 %
<b>Total</b>		<b>6,66%*</b>	<b>3,13%</b>	<b>0%*</b>	<b>3,3%</b>
p <sub>♀</sub> = 0,6					
Nados-mortos (%)		Raça Materna			Total
Raça paterna		HF (n=30)	F1MBxHF (n=32)	F1VSxHF (n=28)	
	HF (n=3)	33,3% (n=3)	-----	-----	33,3% **
	MB (n=33)	0% (n=5)	-----	7,1% (n=28)	6,1% **
	VS (n=54)	23% (n=22)	6,3% (n=32)	-----	12,9%
<b>Total</b>		<b>20% *</b>	<b>6,3 %*</b>	<b>7,1%</b>	<b>11%</b>
*p <sub>♀</sub> (MBxHF – HF) = 0,10; ** p <sub>♂</sub> =0,3					

Não houve diferenças entre as raças para a % de distócia e % de nados-mortos, no que diz respeito ao efeito raça materna e raça paterna.

### 5.1.3. Doenças reprodutivas no puerpério e cetose sub-clínica

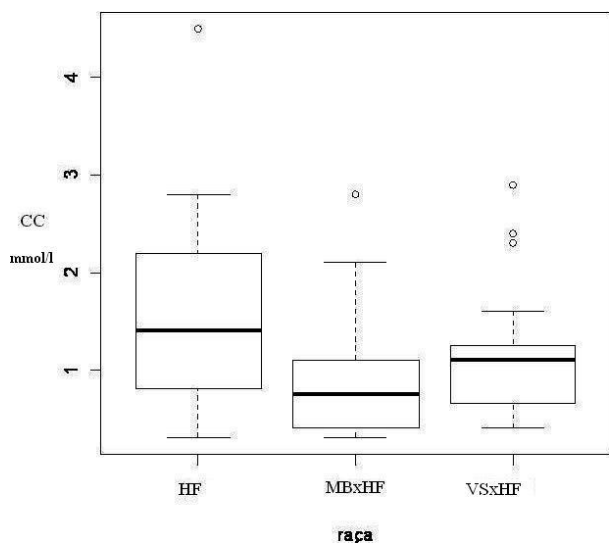
Considerou-se a % de animais com historial de doença do aparelho reprodutor no puerpério (RP, metrites puerperais). O Gráfico 5 representa a incidência de DRPP, especificando a incidência de casos de metrite e RP. O teste de Fisher, não revelou diferenças estatisticamente significativas, relativamente a estes parâmetros para os diferentes grupos genéticos.

Gráfico 5. Percentagem (%) de casos de metrite e RP.



O gráfico seguinte (Gráfico 6), representa a distribuição dos níveis de BHBA sanguíneos, sobre a forma de *boxplot*, nos diferentes grupos genéticos.

Gráfico 6. *Boxplot* - Corpos cetónicos (CC) sanguíneos (mmol/l) nos diferentes grupos



\*\* MBxHF – HF:  $p = 0,0468$ ; VSxHF - HF:  $p = 0,2335$ ; VSxHF- MBxHF:  $p = 0,6794$



As concentrações de corpos cetónicos (BHBA) na segunda semana de lactação são estatisticamente mais elevadas nos indivíduos puros HF comparando com os indivíduos cruzados HFxMB.

A incidência de cetose sub-clínica (BHBA > 1,4 mmol/l), está representada na tabela 11.

Tabela 11. Incidência de cetose sub-clínica (Betahidroxibutirato > 1,4 mmol/l)

	HF (n=19)	MBxHF (n=18)	VSxHF (n=20)	Valor de p
<b>Cetose sub- clínica</b>				
<b>BHBA &gt; 1,4 mmol/l</b>	42,1	16,7	20	p = 0,16
<b>(%)</b>				

Apesar da raça HF apresentar, valores BHBA superiores à raça MBxHF, a sua incidência de cetose sub-clínica não foi diferente das restantes, assim como nas restantes comparações.

## 5.2. Mastite e CCS

Relativamente à percentagem de mastites clínicas, verificou-se uma percentagem global de 14,46 % de casos na amostra em estudo. A Tabela 12 representa as respectivas percentagens para cada grupo.

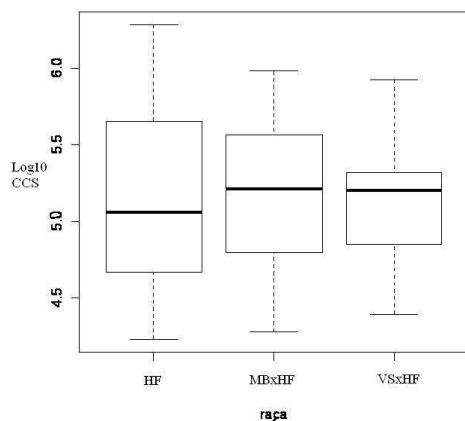
Tabela 12. Percentagem (%) de mastites clínicas.

	HF (n=30)	MBxHF (n=30)	VSxHF (n=23)	Valor de p
<b>Mastites</b>				<b>VSxHF – MBxHF</b>
<b>clínicas (%)</b>	<b>10</b>	<b>6,7</b>	<b>30,4</b>	<b>p= 0,038</b>

O grupo VSxHF obteve uma percentagem elevada de mastites relativamente ao grupo MBxHF, com um valor de significância menor que 0,05 (p=0,038).

O gráfico seguinte, Gráfico 7, representa a distribuição da CCS nos diferentes grupos, sobre a forma de log<sup>10</sup> do número de CCS (unidades).

Gráfico 7 . Boxplot: Distribuição da CCS na raça pura HF e respectivos híbridos MBxHF e VSxHF.



Por análise de variância não se detectaram diferenças nestes dados ( $p=0,96$ ).

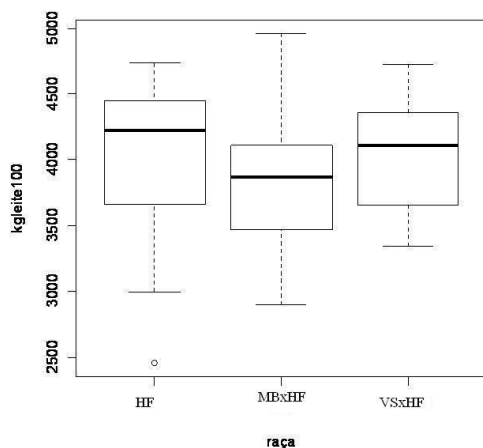
### 5.3. Produção

Os efeitos da heterose na produção total (kg) aos 100 dias de lactação reflectem-se na seguinte tabela (tabela 13) e no gráfico 8.

Tabela 13. Média ( $\chi$ ) e desvio padrão ( $\sigma$ ): produção total D100, % de gordura e proteína.

	HF n=17	MBxHF n=18	VSxHF n=13	p
<b>Produção 100D</b>				
$\chi \pm \sigma$	3969,294 $\pm$ 635,6	3906,611 $\pm$ 576,15	3975,231 $\pm$ 450,56	0,92
	HF n=20	MBxHF n=20	VSxHF n=19	p
<b>Gordura %</b>				
$\chi \pm \sigma$	4,08 $\pm$ 1,26*	3,98 $\pm$ 0,81	3,92 $\pm$ 0,99*	0,89
<b>Proteína %</b>				
$\chi \pm \sigma$	3,17 $\pm$ 0,26	3,22 $\pm$ 0,25**	3,13 $\pm$ 0,42**	0,79

Gráfico 8. Bloxpot - Produção total aos 100 dias. Erro! A origem da referência não foi encontrada.



## 5.4. Relação animal homem

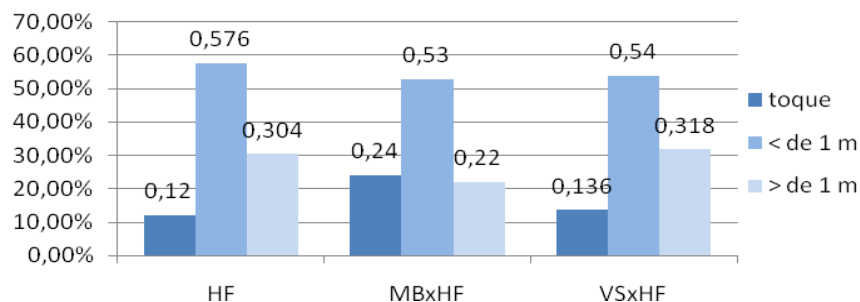
### 5.4.1. Distância de fuga

Como já foi referido as diferentes distâncias de fuga foram separadas em 3 categorias : “toque”, “menos de um metro” (< de um 1 m) e “mais de um metro”(> de 1 m).

O

Gráfico 9 representa, para cada grupo a % de animais com determinado tipo de comportamento à presença humana, sobre a forma dos testes de distância de fuga.

Gráfico 9. Relação animal-Homem - Distância de fuga nos diferentes grupos

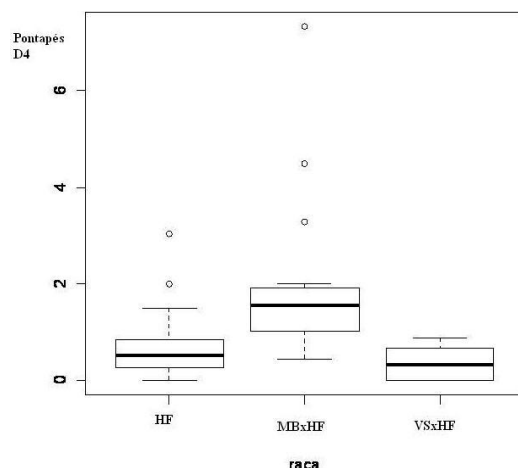


Os níveis de significância obtidos para tolerância ao toque e intolerância ao toque (menos de um metro + mais de um metro) entre os diferentes grupos foram superiores a 0,05 ( $p = 0,56$ ).

### 5.4.2. Temperamento e adaptação à ordenha

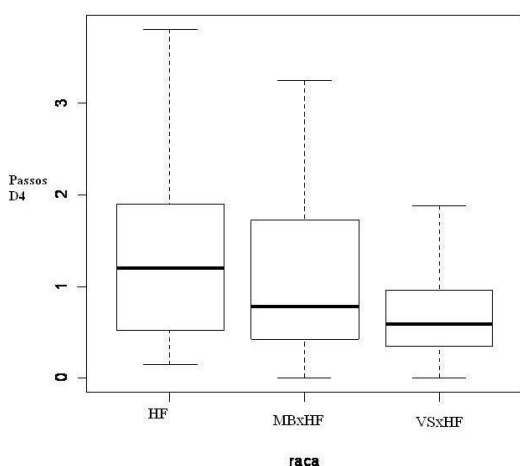
Na fase inicial de avaliação de temperamento de ordenha (ordenha D4) a partir do registo de “stepping and kicking behaviour”, ou seja, passos/minuto e patadas/minuto, foi possível realizar os seguintes gráficos bloxspot (Graf.10 e Graf.11)

Gráfico 10. Boxplot patadas por minuto nas diferentes raças - Ordenha D4



\*\*MBxHF - HF  $p = 0,0017$ ; MBxHF - VSxHF ( $p = 0,0001$ )

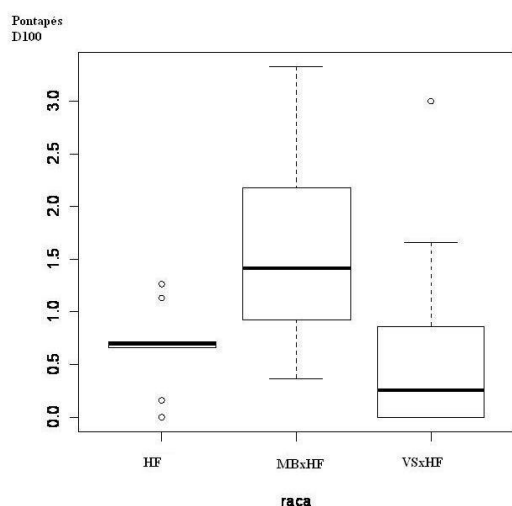
Gráfico 11. Boxplot: passos por minuto nas diferentes raças - ordenha D4



\*\*HF-VSxHF ( $p=0,038$ )

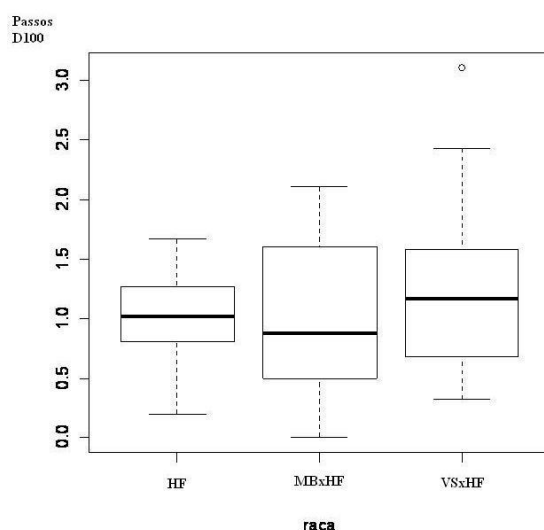
O grupo MBxHF diferiu dos dois restantes em termos de maior número de patadas por minuto durante a ordenha. O grupo HF diferiu de VSxHF em termos de maior de número de passos. Aos 100 dias de lactação verificou-se mais uma vez que a raça MBxHF teve o maior número de pontapés por minuto durante a ordenha que as restantes. Relativamente à raça HF o nível de significância foi de  $p=0,026$  e, relativamente à raça VSxHF foi de  $p=0,00404$ . Mais uma vez, as raças não apresentaram diferenças a nível do fluxo de leite ( $p$  mínimo [VSxHF – MBxHF]  $=0,702$ ) (Graf. 12 e Graf.13).

Gráfico 12. Boxplot: patadas por minuto nas diferentes raças - ordenha D100.



\*\*MBxHF – VSxHF ( $p=0,004$ ); MBxHF-HF ( $p=0,03$ )

Gráfico 13. Bloxpot passos por minuto nas diferentes raças - Ordenha D100



p=0,61

## 6. Discussão dos resultados

No presente estudo testaram-se as diferenças entre fêmeas primíparas puras HF e fêmeas primíparas cruzadas, abordando os pontos principais em produção de bovinos de leite: performance reprodutiva, doenças metabólicas, performance produtiva e relação animal-Homem (comportamento na ordenha e distância de fuga).

A estratégia de melhoramento genético animal (*crossbreeding*), originou na mesma geração 3 grupos de animais geneticamente distintos (HF, MBxHF e VSxHF) que diferiram estatisticamente nas seguintes características:

**Concentração de BHBA na segunda semana de lactação:** indivíduos HF com maior concentração que os indivíduos MBxHF (p=0,0468)

**Íncidência de mastite clínica:** indivíduos VSxHF com maior incidência de mastites que o grupo MBxHF (p=0,038)

**Temperamento e adaptação à ordenha:** MBxHF com maior frequência de patadas que as restantes raças quer na fase inicial de lactação (p=1x10<sup>-4</sup> e p=0,0017), quer no terceiro mês de lactação (p=0,0017 e p=0,026). HF com maior número de passos que as VSxHF na fase inicial de lactação (p=0,0376).

### 6.1. Performance Reprodutiva

Como foi dito na revisão de literatura, as características relacionadas com a reprodução e características funcionais possuem elevado grau de dominância e por isso mesmo baixa

heritabilidade. Por estas razões, o aumento da consaguinidade afecta negativamente estas características em elevado grau, ao contrário da heterose (Gama, 2002). No entanto, a proposição não se verificou nos animais em estudo, pela ausência de diferenças entre os indivíduos puros e cruzados.

#### **6.1.1. Índices de fertilidade**

Relativamente à idade à primeira inseminação, verificou-se que os diferentes grupos de fêmeas foram inseminadas entre os 14, 15 meses. Nenhuma dos grupos foi significativamente mais precoce que outra, sendo esta a idade padrão a qual as novilhas são inseminadas. Obteve-se uma média de idade à primeira inseminação mais baixa nas VSxHF relativamente à MBxHF, com um nível de significância de  $p=0,141$ , o que sugere uma tendência para a raça VSxHF ser a menos precoce. Sendo o intervalo primeira inseminação – inseminação fecundante, entre as raças, não significativo, verificou-se que a idade ao primeiro parto teve níveis de significância próximos à idade à primeira inseminação, sendo mais uma vez a raça VSxHF tendencialmente menos precoce para a idade ao primeiro parto, relativamente à raça MBxHF ( $p=0,17$ ).

Os índices de concepção para o primeiro ciclo reprodutivo, isto é ICG 1C e IC1S 1C, também não foram significativos, mas verificou-se que os índices de concepção foram dos indivíduos cruzados foram superiores ao dos indivíduos puros. Relembrando que, na exploração em estudo, as novilhas permanecem no campo durante este período, podendo influenciar negativamente a detecção de estros e respectivamente nos índices de concepção obtidos.

Os índices de fertilidade obtidos após o parto, isto é, intervalo parto-IA, dias abertos e IEP não foram significativos tendo em conta os grupos genéticos.

Os resultados não são compatíveis com os autores Heins, Hansen e Seykora (2006a), que detectaram diferenças significativas superiores no período voluntário de espera entre cruzadas MBxHF ( $\chi = 65$ ) e Normande xHF ( $\chi = 62$ ) relativamente à raça pura HF ( $\chi=69$ ). Relativamente ao número de dias abertos os autores detectaram, através de uma análise de Qui-quadrado uma percentagem mais pequena de vacas puras HF com menos de 100 dias abertos, comparativamente aos restantes grupos cruzados ( $p=0,01$ ).

Verificaram também que o ICPS 2C em cruzamentos de MBxHF (31%), Normande x HF (35%) e Vermelhas Nórdicas x HF (30%) , foram superiores à raça HF (22%), tendo as duas primeiras raças cruzadas diferenças significativas. As raças Vermelhas Nórdicas x HF obtiveram um valor de  $p$  muito próximo da significância ( $p=0,06$ ).

No presente estudo os resultados relativos ao segundo ciclo reprodutivo (dias abertos, IEP, ICG 2C e ICSP 2C) não tiveram a produtividade desejada para o estudo pois a amostra é reduzida, dado que até ao fim do período de investigação o número de vacas inseminadas com sucesso foi reduzido (VSxHF=5, MBxHF=13, HF=13). Heins, Hansen e Seykora (2006a) utilizaram uma amostra superior com 692 HF, 465 Normande x HF e 655 MBxHF e 434 Vermelhas Nórdicas x HF distribuídas por 7 explorações.

Em todos os índices de fertilidade calculados, apenas no ICG1C e ICPS1C se verificou uma tendência para o estabelecimento do conceito de vigor híbrido (características reprodutivas beneficiam com a heterose).

### **6.1.2. Distócia e nados mortos**

Verificou-se a influência da raça materna (raça pura e raças cruzadas) e raça paterna (HF, MB, VS) na incidência de distócia e nados mortos. Nestes resultados é importante referir que na amostra em estudo apenas 3 fêmeas (HF) foram inseminadas com touros HF.

Tanto na influência da raça do touro e raça da fêmea não se verificaram diferenças

Relativamente à incidência de distócia, as fêmeas primíparas VSxHF não tiveram casos de distócia grau 3, apesar do nível de significância ser elevado em comparação com a raça materna HF ( $p=0,49$ ). Relativamente ao grau 2, verificou-se que a raça VSxHF teve a maior incidência neste grau (14,3 %) mas sem significância estatística. Pode concluir-se que a raça VSxHF tende a apresentar uma maior necessidade de algum auxílio durante os partos, pois estas são fêmeas primíparas com uma estrutura corporal mais pequena e inseminadas com touros de uma raça com estatura superior (MB), o que aumenta a probabilidade de ocorrer alguma dificuldade. No entanto verifica-se que a mesma raça (VSxHF) tende a apresentar baixas % de distócias com graus de dificuldade superiores.

Tendo em conta a classificação de Heins, Hansen e Seykora (2006b), ou seja considerando apenas a % de distócia grau 3, os autores detectaram que as Vermelhas Nórdicas x HF também tiveram a menor percentagem de distócia, mas detectaram com um nível de significância de 0,01.

No presente estudo, apenas o grupo materno MBxHF apresentou uma tendência para menor incidência de nados mortos relativamente a mães HF ( $p=0,102$ ). Pelo contrário, Heins, Hansen e Seykora (2006b) detectaram apenas uma menor percentagem significativa de nados mortos nos filhos de mães vermelhas nórdicas (7,7 %  $p < 0,01$  em comparação com HF), enquanto que nas MBxHF, apesar de ser menor, (12,7 %) não foi significativo em comparação com as mães HF (15,1 %).

Apesar de os resultados não terem sido significativos, o conceito de heterose tende a ser aplicável na incidência de nados mortos, pois o nível de significância é relativamente próximo de 0,05 ao comparar a raça pura HF com as vacas cruzadas MBxHF.

## **6.2 Doenças no período pós-parto**

### **6.2.1. Incidência de metrite e retenção placentária**

Quando se verificou a incidência de metrite e RP verificou-se, na incidência de RP que as VSxHF obtivarem o valor mínimo de p de 0,32 ao comparar com as HF. Na incidência de metrite, verificou-se que as MBxHF tendem a ser estaticamente menos susceptíveis ao comparar com as HF ( $p=0,074$ ).

Verificou-se também neste grupo de animais em estudo que a % de retenção placentária foi muito elevada, pois em primiparas a sua incidência é de cerca de 8 % . Poderá esta exploração em particular ter uma incidência de RP mais elevada? Poderão os critérios de registo e tratamento de RP serem mais rigorosos por parte dos tratadores?

### **6.2.2. Corpos Cetónicos**

Ao verificar a predisposição para o grau de BEN e doenças metabólicas relacionadas (cetose sub-clínica) através da medição dos corpos cetónicos, verificou-se que raça pura HF é mais afectada que a cruzada MBxHF, devido às suas concentrações elevadas de BHBA na segunda semana do pós-parto. Quanto à cruzada VSxHF não se verificou qualquer diferença comparando com as restantes.

Apresenta-se duas justificações possíveis: a heterose entre as raças Montbéliarde e HF poderá ter efeitos em termos de menor stress metabólico ou então o facto de a raça pura Montbéliarde não ter sido maioritariamente seleccionada para a elevada produção de leite como a raça HF, sendo deste modo, menos propensa ao desenvolvimento de maior grau BEN. Como já foi referido, maior potencial genético leva a maior magnitude de BEN, logo maior é a mobilização tecidular. Relativamente à raça pura VS, foi referido que o nível produtivo desta é também bastante elevado, próximo do nível das HF. No presente estudo não se verificaram diferenças entre esta e os restantes grupos, no entanto o valor de p entre VSxHF e HF é menor (0,23) que o valor de p entre SRxHF e MBxHF (0,67). Logo poderá ser maior a tendência para o grupo VSxHF apresentar valores inferiores de BHBA relativamente à raça HF. O facto da raça pura apresentar menor capacidade corporal, implica menor output em termos de energia de manutenção, logo menor probabilidade de ocorrência de maior grau de BEN. A heterose poderá também ter algum efeito benéfico.



Em termos de incidência de cetose sub-clínica não se verificaram diferenças. No entanto, os valores de  $p$  comparativos entre as respectivas raças cruzadas e a raça pura, indicam uma maior tendência para a raça pura HF ter uma incidência superior de cetose sub-clínica relativamente à raça cruzada MBxHF ( $p= 0,151$ ). Entre a raça HF e o grupo VSxHF a situação foi idêntica, mas o valor de  $p$  foi ligeiramente superior ( $p= 0,176$ ).

Estes resultados são indicativos de que a utilização de *crossbreeding* pode ser uma medida para melhorar o bem-estar nas explorações. O balanço energético negativo e o stress metabólico resultante da intensificação da produção de leite é prejudicial em termos de resposta imunitária e eficiência reprodutiva (diminuição da fertilidade), sendo estas umas das causas de decréscimo de bem-estar animal nas explorações.

### **6.2.3. Mastite e CCS**

A maior percentagem de mastites clínicas no grupo VSxHF é um resultado que levanta várias hipóteses. Existirá alguma característica peculiar, na raça pura VS em termos de predisposição para mastite (conformação do úbere e tetos, imunossupressão pós-parto) que ainda não tenha sido estudado ou foi um caso particular na amostra em causa? Mais estudos teriam de ser feitos com uma amostragem mais elevada e tentar avaliar se existe algum factor que predispõe a raça VS a mastite clínica ou se este resultado foi apenas pontual.

Quanto à contagem de células somáticas não se verificaram diferenças tal como outros autores não detectaram quaisquer benefícios da heterose utilizando diferentes raças para cruzamentos com Holstein-Frísia (Prendiville et al., 2010; VanRanden & Sanders, 2003). É importante lembrar que a maioria dos animais com mastite clínica não foram avaliados no contraste seguinte processo de mastite, em alguns casos, por exemplo, devido a refugo por mastite, daí as diferenças nas CCS não estarem relacionadas com a incidência de mastite.

### **6.3. Produção total e parâmetros de qualidade de leite**

Apesar de a média de produção dos grupos HF e VSxHF ser superior à média de produção do grupo MBxHF não se identificaram diferenças significativas na performance produtiva (produção total, gordura, proteína). O valor de  $p$  mínimo obtido entre as comparações verificou-se entre as primíparas VSxHF e MBxHF ( $p=0,941$ ). Por isso mesmo a heterose não teve, nem efeitos benéficos nem prejudiciais na produção total aos 100 dias de lactação. Os resultados de Heins, Hansen & Seykora (2006c) não são compatíveis com os obtidos neste estudo, pois os autores verificaram que vacas (igualmente primíparas) HF puras tinham produções significativamente mais elevadas do que vacas cruzadas com Montbéliarde, Normande e Vermelhas Nórdicas ( $p<0,01$ ). No entanto é necessário ter em conta que os

autores utilizaram a produção aos 305 dias de lactação e cerca de 1500 animais divididos pelos 3 grupos genéticos. Poderá também existir a possibilidade de, após o pico de lactação, as diferentes raças diminuírem em determinado grau a sua produção. Em resposta a esta questão, os autores, através da realização de curvas de lactação, sugerem que, os diferentes grupos testados tendem a ser similares em termos de curva de lactação. No entanto não existem estudos objectivos para verificar esta sugestão.

Relativamente aos parâmetros de qualidade de leite, obteve-se uma média de % proteína superior no grupo VSxHF relativamente às restantes mas com níveis de significância maiores que 0,78. Obteve-se uma média superior de % de gordura no grupo HF, mas sem significado em termos de comparação. Os parâmetros de qualidade de leite são aqueles em que a influência da heterose é mínima, devido à sua heritabilidade elevada (Gama, 2002). O seu grau de dominância é muito reduzido, logo o prejuízo pela consanguinidade e benefício pela heterose são mínimos comparando com as características de reprodução. Além disso, os autores Heins, Hansen e Seykora concluíram no seu estudo que este tipo de cruzamentos não permitem separar os efeitos genéticos aditivos dos efeitos heteróticos.

## **6.4. Relação animal-homem**

### **6.4.1. Distância de Fuga**

Em termos de reacção e relação com os humanos, os grupos não diferiram entre si. O grupo MBxHF apresentou uma percentagem de animais com tolerância ao toque mais elevada do que as restantes, mas não foi suficiente para determinar uma diferença entre os grupos ( $p = 0,46$ ). Os cruzados VSxHF é idêntica à raça HF em termos de distância de fuga. Desconhecem-se dados acerca do comportamento perante a relação humana nas raças puras VS e MB, no entanto, tendo em conta os valores de  $p$  similares nas comparações com a raça Montbéliard ( $p$  [MBxHF – HF] = 0,46 e  $p$ [MBxHF – VSxHF]=0,47), poderá haver a possibilidade de obter respostas mais precisas deste comportamento na raça MB, realizados na raça pura ou mesmo nos cruzamentos com maior número de animais.

### **6.4.2. Temperamento e resposta ao stress na ordenha**

No que diz respeito a adaptação a ambientes não familiares, verificou-se que as MBxHF apresentam um reacção mais adversa aos procedimentos da ordenha. A sua frequência de patadas por minuto foi mais elevada que nos restantes grupos em ambas as ordenhas, sendo a diferença mais significativa em comparação com o grupo VSxHF. Na ordenha D4 a diferença entre a raça MBxHF e as restantes foi mais significativa que as na ordenha D100, sendo os

valores de p mais elevados na ordenha D100 mas igualmente significativos. Apenas a HF foi a que apresentou maior stress e impaciência na ordenha no dia 100, em relação à VSxHF, em termos de número de passos. O grupo menos temperamental foi o grupo das VS x HF pois foi a que obteve menos número de patadas em ambas as ordenhas e menos número de passos. Com estes resultados foi possível perceber que a utilização de raças mais rústicas como a Montbéliard em programas de cruzamentos, pode resultar em dificuldades adicionais em termos de manejo durante a ordenha. Por isso, os ordenhadores devem ser alertados em termos de cuidados necessários para sua própria segurança e bem-estar dos animais.

## 7. Conclusão

A introdução de novas metodologias de melhoramento e selecção nas explorações começa a tornar-se prioritária, tendo em conta o contexto actual das populações de bovinos de leite. A utilização de *crossbreeding* tem sido apontada para esse efeito.

Em primeiro lugar, cada produtor deve aferir sobre os principais problemas chave da sua exploração de modo poder trabalhar sem custos acrescidos de produção, adequando o programa selecção que responda aos problemas da exploração.

Relativamente aos problemas relacionados com a fertilidade, apesar de outros estudos indicarem o contrário, não foi possível detectar diferenças entre vacas puras e vacas cruzadas, apesar de alguns resultados relativos ao primeiro ciclo reprodutivo tenderem para o estabelecimento do conceito de heterose. Os resultados podem não ser constatados em fases iniciais produtivas. Sugerem-se estudos mais aprofundados, noutros ciclos reprodutivos relativamente aos índices de fertilidade e nas gerações seguintes.

Contudo, concluiu-se que a utilização de programas de *crossbreeding*, com raças cujos seus níveis de produção são mais baixos (raça MB), resulta num decréscimo da ocorrência de BEN. Apesar de não ter sido detectado na amostra, sabe-se que o BEN está relacionado com a diminuição das condições de fertilidade e de imunidade intrínseca.

Concluiu-se também que, a utilização de raças mais robustas (caso Montbéliarde) pode interferir nas condições de manejo principalmente nas fases de adaptação às actividades de rotina da exploração, como por exemplo a ordenha.

A elevada incidência de mastites clínicas nos indivíduos cruzados Vermelha-Sueca x Holstein-Frísia é outra das propostas de pesquisa futura, de modo a tentar perceber se esta incidência, resulta de um mecanismo intrínseco da própria raça pura ou outros factores extrínsecos não relacionados com a genética ou características fenotípicas da própria raça.

#### IV – BIBLIOGRAFIA

Adamec, V., Cassell, B.G., Smith, E.P. & Pearson, R.E., (2006). Effects of inbreeding in the Dam on Dystocia and Stillbirths in U.S. Holsteins, [Abstract]. *Journal of Dairy Science*, 89-1, 307-314.

Ali, I., (2005). *Behaviour of young dairy bulls under group housing conditions and mature dairy bulls during semen collection* (pp. 13). Thesis of Master of Science Degree in Veterinary Medicine. Skara: Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science – Swedish University of Agricultural Sciences.

Associação Portuguesa de Criadores da Raça Frísia, (2008). APCRF: História. Acedido em Fev. 7, 2011, disponível em: <http://www.apcrf.pt/gca/?id=148>

Bar, D., Grohn, Y.T., Bennett, G., González, R.N., Hertl, J.A., Schulte, H.F., Tauer, L.W., Welcome, F.L. & Schukken, Y.H. (2008). Effects of repeated episodes of generic clinical mastitis on mortality and culling dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 91, 2196-2204.

Begley, N., Buckley, F., Pierce, K.M., Fahey, A.G. & Mallard, B.A. (2009). Differences in udder health and immune response traits of Holstein-Friesians, Norwegian Reds, and their crosses in second lactation. [Abstract]. *Journal of Dairy Cattle*, 92, 749-757.

Blanco, M.A. & Gasque, R. (2001). Razas de ganado bovino lechero. In M.A. Blanco & R. Gasque (Ed.). *Zootecnia en bovinos productores de leche*. (pp. 52-64). Mexico: Universidad Nacional Autónoma de Mexico.

Bruckmaier, R.M. & Blum J.W. (1998). Oxytocin release and milk removal in ruminants. *Journal of Dairy Science*. 81 (4): 939-949.

Caraviello, D.Z. (2004). Crossbreeding Dairy Cattle. *Reproduction and Genetics*. 210.

Cardó, C.B. (1995), Genética, Patología, Higiene y Residuos Animales. Zootecnia – Bases de producción animal (pp. 18-21). Madrid: Mundi-Prensa Libros.

Cassel B. (2007). Mechanisms of inbreeding depression and heterosis for profitable dairying, in *Proceedings of 4<sup>th</sup> W.E. Peterson Symposium: Crossbreeding of dairy cattle, the science and the impact, Minnesota, EUA, 2 April, 2007*, pp. 29-39, Acedido em Mar. 5, 2011, disponível em: [http://swroc.cfans.umn.edu/prod/groups/cfans/@pub/@cfans/@swroc/documents/asset/cfans\\_asset\\_234005.pdf](http://swroc.cfans.umn.edu/prod/groups/cfans/@pub/@cfans/@swroc/documents/asset/cfans_asset_234005.pdf)

Cassel, B., (1999). *Inbreeding in Dairy Cattle*. In The Dairy Site. Acedido em Fev. 25, 2011, disponível em: <http://www.thedairysite.com/articles/698/inbreeding-in-dairy-cattle>

Curry, M.R., (2002). Cryopreservation of semen from domestic livestock. *The Journal of the Society for Reproduction*, 5, 46-52

Duffield, T.F., Lissemore, K.D., McBride, B.W. and Leslie K.E. (2009). Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. In *Journal of Dairy Science*. 92, 571-580.

European Food Safety Authority (2009). Scientific Report of EFSA prepared by the Animal Health and Animal Welfare Unit on the effects of farming systems on dairy cow welfare and disease. *Annex to the EFSA Journal*, 1143, 1-284.

Foote, R.H., (2002). The history of artificial insemination: Selected notes and notables. *Journal of animal Science*. 80, 1-10.

Gama, L.T. (2002) *Melhoramento Genético Animal*. (1<sup>st</sup> ed.). Lisboa: Escolar editora.

Garcia, E.F., (2009). *Animal welfare and performance: Oestrus intensity in Swedish dairy cattle – Is there a relationship with animal-based welfare parameters?* (pp. 30-32).  
Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.

Garner, D.L. & Seidel Jr, G.E. (2008). History of commercializing sexed semen for cattle. In *Theriogenology*, 69 – 7, 886-895.

Gibbons, J., Donald, R., Turl, R., Maggs, L., Wall, E., Lawrence, A.B., Haskell, M. (2007). Behavioural consequences of the genetic selection for health and fertility or 'robustness' in dairy cows: responsiveness to novelty and human interaction. (Eds) *Proceedings of the British Society of Animal Science, Welfare and Behaviour, London, U.K., 10 April, 2007*, pp. 42.

Gillespie, J.R. & Flanders, F.B. (2010). *Breeds of dairy Cattle*. In J.R Gillespie & F.B. Flanders (Ed). *Modern Livestock and Poultry production*, (8<sup>th</sup> Ed.) New York: Delmar Cengage Learning.

Gordon, I.R., (2005). *Reproductive Technologies in Farm Animals*. (1<sup>st</sup> ed.) Cambridge: Cabi publishing.

Greiner, S.P., (2009). Crossbreeding Beef Cattle. In *Virginia Corporative Extension*. Pub: 400-805. Disponível em: [http://pubs.ext.vt.edu/400/400-805/400-805\\_pdf.pdf](http://pubs.ext.vt.edu/400/400-805/400-805_pdf.pdf)

Grosclaude, F. & Millot, P., (1962). Contribution a l'étude des groupes sanguins de la race bovine Montbéliarde. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 2, 185-208.

Hansen, L. (2006b). Crossbreeding in Dairy Cattle Requires the Use of Three Breeds. *The Dairy Site*, 2006. Acedido em Mar. 24, 2011, disponível em: <http://www1.extension.umn.edu/Dairy/reproduction-and-genetics/crossbreeding-requires-three-breeds/>

Hansen, P.J., (2006a). Realizing the promise of IVF in cattle - an overview. *Theriogenology*. 65 – 9: 119-225.

Hasler, J.F. (2003). The current status and future of comercial embryo transfer in Cattle. In *Animal Reproduction Science*. 79, 245-264.

Hasler, J.F. (2006). The Holstein cow in embryo transfer today as compared to 20 years ago. In *Theriogenology*. 65, 4-16

- Heins, B.J. , Hansen, L.B. & Seykora A.J. (2006a). Fertility and Survival of Pure Holsteins Versus Crossbreds of Holstein with Normande, Montbeliarde, and Scandinavian Red. In *Journal of Dairy Science*, 89,4944 – 4951.
- Heins, B.J. , Hansen, L.B. & Seykora A.J. (2006b). Calving Difficulty and Stillbirths of Pure Holsteins versus Crossbreds of Holstein with Normande, Montbeliarde, and Scandinavian Red. In *Journal of Dairy Science*, 89:2805 – 2810
- Heins, B.J. , Hansen, L.B. & Seykora A.J. (2006c). Production of Pure Holsteins Versus Crossbreds of Holstein with Normande, Montbeliarde, and Scandinavian Red. In *Journal of Dairy Science*. 89, 2799 – 2804.
- Heins, J.B. (2007). Impact of an Old Technology on Profitable Dairying in the 21st Century. *Proceedings of 4<sup>th</sup> W.E. Peterson Symposium: Crossbreeding of Dairy Cattle, the Science and the impact, Minnesota, EUA, 2 April, 2007*. Acedido em Fev. 28, 2011, disponível em: [http://swroc.cfans.umn.edu/prod/groups/cfans/@pub/@cfans/@swroc/documents/asset/cfans\\_asset\\_234005.pdf](http://swroc.cfans.umn.edu/prod/groups/cfans/@pub/@cfans/@swroc/documents/asset/cfans_asset_234005.pdf).
- Heins, J.B., Hansen, W.P., & Seykora A.J. (2007). *The California experience of mating Holstein cows to A.I. sires from the Swedish Red, Norwegian Red, Montbeliarde, and Normande breeds*. Acedido em Mar. 3, 2011, disponível em: <http://www.ansci.umn.edu/research/California%20update%202007-kg.pdf>
- Holstein Association United States of America (2011). *History of the Holstein Breed*. Acedido em Mar. 20, 2011 disponível em: [http://www.holsteinusa.com/holstein\\_breed/breedhistory.html](http://www.holsteinusa.com/holstein_breed/breedhistory.html)
- Hopster, H., Bruckmaier, R.M., Van der Werf, J.T.N., Korte, S.M., Macuhova, J., Korte-Bouws, G. & Van Reenen, C.G. (2002). Stress Responses during Milking; Comparing Conventional and Automatic Milking in Primiparous Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 3206-3216.
- Huijps, K., Lam, T.J.G.M. & Hogeveen H.(2008) Costs of mastitis: facts and perception [Abstract] *Journal of Dairy Research*, 75, 113-120.
- Ikonen, T., Ahlfors, K., Kempe, R., Ojala, Ruottinen, O. (1999). Genetic parameters for the milk coagulation properties and prevalence of non-coagulating milk in Finnish Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 82, 205-214.
- Iwersen, M., Falkenberg, U., Voigtsberger, R., Forderung, D. & Heuwieser, W., (2009). Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 2618-2624.
- Jainudeen, M.R. & Hafez, E.S.E. (2000). Reproductive Cycles: Cattle and Buffalo. In E.S.E. Hafez and Hafez, B., *Reproduction in Farm Animals* (7<sup>th</sup> ed.) South Carolina: Lippincott Williams & Wilkins.
- Kesler, D.J. & Garverick, H.A. (1982). Ovarian cysts in dairy cattle: a review. [Abstract]. *Journal of Animal Science*, 55, 1147-1159.

- Lammers, P.J., Stender, D.R., Honeyman M.S. (2007). Crossbreeding and Hybrid Vigor. In *Reproduction and Genetics*. NPP 410:1-4.
- Leslie, K.E. (1983). The Events of Normal and Abnormal Postpartum Reproductive Endocrinology and Uterine Involution in Dairy Cows: A Review. *Canadian Veterinary Journal*. 24: 67-71.
- Luttinen A. & Juga J. (1997). Genetic relationships between milk yield, somatic cell count, mastitis, milkability and leakage in Finnish dairy cattle. *Interbull bulletin*, 15: 76-83.
- Mason, I.L. (1996). A world dictionary of livestock breeds types and varieties (4<sup>th</sup> ed.). Wallingford: Cab publishing.
- Mateus L. (2003). Infecção uterina puerperal. *Medicina veterinária*, 57, 43-52
- Meydan, H., Yildiz, M.A. & Agerholm, J.S. (2010). Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey, *Acta Veterinaria Scandinavica*, Oct.7, 52-56.
- Meyer, C.L., Berger, P.J., Koehler, K.J., Thompson, J.R. & Sattler, C.G. (2001). Phenotypic trends in incidence of stillbirth for Holsteins in the United States. *Journal Dairy Science*, 84, 515-523
- Meyer, K. & Burnside, E.B., (1987). Scope for a subjective assessment of milking speed. *Journal of Dairy Science*, 70, 1061-1068.
- Nunes, A. F. (2004). *Leite mecanismos de produção*. Porto: Fenalac
- O'Brien, B., Berry, P. D., Kelly, P., Meaney, W.J. & O'Callaghan, E.J. (2009). *A study of the somatic cell count (SCC) of Irish milk from herd management and environmental perspectives*. Project number 5399. Teagasc: Moorepark Dairy Production Research Centre.
- Olson, T.A., (1999). Genetics of colour variation. In R. Fries & A. Ruvinsky (Ed.) *The genetics of cattle*. (pp. 33-51). USA: Cab international.
- Oltenacu, P.A. & Broom D.M., (2010). The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. *Animal Welfare*, 19 (S), 39-49. Acedido em Mar. 5, 2011, disponível em: [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/animalwelfare/dairy.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/animalwelfare/dairy.pdf)
- Oltenacu, P.A., & Algers, B. (2005). Selection for Increased Production and the Welfare of Dairy Cows: Are New Breeding Goals Needed. *Ambio*, 34, 311-315.
- Organisme de sélection Montbéliard, (2008). The Montbeliarde Breed. In *Les fiches de l'Organisme de Selection Montbéliard*. Acedido em Abr., 20, 2011. Disponível em: [http://www.montbeliarde.org/pdf/Version\\_anglaise.pdf](http://www.montbeliarde.org/pdf/Version_anglaise.pdf)
- Organisme de sélection Montbéliard, (2010). Résultats au contrôle laitier 2010. In *Les fiches de l'Organisme de Selection Montbéliard*. Acedido em Abr., 20, 2011. Disponível em: [http://www.montbeliarde.org/pdf/fiche\\_os\\_cl\\_et\\_ia.pdf](http://www.montbeliarde.org/pdf/fiche_os_cl_et_ia.pdf)

Parland, S. Mc., Kearney J.F., Rath, M. & Berry, D.P. (2010). *Inbreeding effects on milk production and calving performance in Irish Holstein-Friesian cows*. Acedido a Mar., 11, 2011. Disponível em: <http://www.docstoc.com/docs/36985433/Inbreeding-effects-on-milk-production-and-calving-performance>.

Pastell, M., Aisla, A.M., Hautala, M., Poikalainen, V., Praks, J., Veermae I. & Ahokas, J. (2006). Contactless measurement of cow behavior in a milking robot. *Behavior Research Methods*, 38 (3), 479-486.

Peek, S.F. & Divers, T.J. (2008). Metabolic Diseases. In S.F. Peek & T.J. Divers (Ed) *Diseases of Dairy Cattle* (2<sup>th</sup> Ed.) (pp. 592-596). St. Louis: Saunders Elsevier.

Peter, A.T. (2000) Managing postpartum Health and Cystic ovarian disease. In *Advances in Dairy Technology*. 66, 85

Peter, J., Hansen, J. & Block, J., (2004). Towards an embryocentric world: the current and potential uses of embryo technologies in dairy production. *Reproduction, Fertility and Development*. 16 (1-2), 1-14.

Prendiville, R., Pierce, K.M. & Buckley, F. (2010). A comparison between Holstein-Friesian and Jersey dairy cows and their F1 cross with regard to milk yield, somatic cell score, mastitis, and milking characteristics under grazing conditions. *Journal of Dairy Science*, 93, 2741-2750.

Radostitis, O., Gay, C., Constable, P. D. & Hinchcliff, K. (2007a). Metabolic Diseases: Production Diseases. In O. M. Radostits, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff & P. D. Constable (Eds.), *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of Cattle, Horse, Sheep, Pigs and Goats: Part I General Medicine*. (10th ed.). (pp.684 - 753). Philadelphia: Elsevier Saunders.

Radostitis, O., Gay, C., Constable, P. D. & Hinchcliff, K. (2007b). Diseases of the mammary gland. In O. M. Radostits, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff & P. D. Constable (Eds.), *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of Cattle, Horse, Sheep, Pigs and Goats: Part I General Medicine*. (10th ed.). (pp.684 - 753). Philadelphia: Elsevier Saunders.

Rao, A.R. & Bhatia, V.K. (1992). *Estimation of genetic parameters*. New Delhi. Acedido em Mar. 8, 2011, from Indian Agricultural Statistics Research Institute disponível em: [http://www.iasri.res.in/ebook/EB\\_SMAR/e-book\\_pdf%20files/Manual%20III/19-animal\\_breed\\_tech.pdf](http://www.iasri.res.in/ebook/EB_SMAR/e-book_pdf%20files/Manual%20III/19-animal_breed_tech.pdf)

Rensing, S. & Ruten, W. (2005) Genetic evaluation for milking speed in German Holstein population using different traits in a multiple trait repeatability model. *Interbull bulletin*, 33: 15-169.

Rodriguez-Martinez, H., Hultgren, J., Bage, R., Bergvist, A-S., Svensson, C., Bergsten, C., Lidfors, L., Gunnarsson, S., Algers, B., Emanuelson, U. Berglund, B., Andersson, G., Haard, M., Lindhé, B., Stalhammar, H. & Gustafsson, H. (2008). *Reproductive Performance in High-producing Dairy Cows: Can We Sustain it Under Current Practice?* In: I.V.I.S. (Ed.), *IVIS Reviews in Veterinary Medicine*. Ithaca NY: International Veterinary



Information Service. Acedido em 28 de Fevereiro, 2009, disponível em : <http://www.ivis.org/docarchive/R0108.1208.pdf>

Roelofs, J.B., Bouwman, E.B., Pedersen, H.G., Rasmussen, Z., Soede, N.M., Thomsen, P.D. & Kemp, B., (2006). Effect of time of artificial insemination on embryo sex ratio in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*. 93, 366-371.

Rousing, T., Bonde, M., Badsberg, J.H. & Sorensen, J.T. (2004). Stepping and kicking behavior during milking in relation to response in human–animal interaction test and clinical health in loose housed dairy cows. *Livestock production Science*, 88, 1-8.

Rushen, J., Munksgaard, L., de Passillé, A.M.B., Jensen, M.B. & Thodberg, K. (1998). Location of handling and dairy cow's responses to people. *Applied Animal Behaviour Science*, 55, 259-267.

Schutz M.M. & Pajor E.A., (2001) Genetic control of dairy cattle behaviour. In *Journal of Dairy Science*, 84 (S), 31-38.

Smith, L.A., Cassel, P.G. & Pearson, R.E, (1998). The effects of inbreeding on the lifetime performance of dairy cattle. *Journal of dairy Science*, 81 (10), 27-37.

Sorensen, K.M. (2007). Crossbreeding – An Important Part of Sustainable Breeding in Dairy Cattle and Possibilities for Implementation. In *Proceedings of 4<sup>th</sup> W.E. Peterson Symposium: Crossbreeding of Dairy Cattle, the Science and the impact, Minnesota, EUA, 2 April, 2007*. Acedido em Mar. 3, 2011, disponível em: [http://swroc.cfans.umn.edu/prod/groups/cfans/@pub/@cfans/@swroc/documents/asset/cfans\\_asset](http://swroc.cfans.umn.edu/prod/groups/cfans/@pub/@cfans/@swroc/documents/asset/cfans_asset)

Sorensen, M.K., Norberg, E., Pedersen, J. & Christensen L.G., (2008). Invited review: Crossbreeding in dairy cattle: a danish perspective. *Journal of Dairy Science*, 91, 4116-4128.

Stringfellow, B. W. (1995). Epidemiological implications of the production and transfer of IVF embryos . *Theriogenology*. 43, 89-96.

Swalve, H. H., Rosner, F. & Wemheuer, W. (2003). Inbreeding in the German Holstein cow population. Proceedings of. *EAAP – 54th Annual Meeting*, Rome, Italy, 2003, 17.

Swiss Herdbook (2009). *Genétique: Montbéliarde*. Acedido em Abr. 22, 2011. Disponível em: <http://www.swissherdbook.ch/fr/genetique/races/montbeliarde/>

Thompson, J.R., Everett, R.W. & Hammerschmidt, N.L. (2000). Effects of inbreeding on production and survival in Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 83:1856–1864

Van Reenen, C.G., Van der Werf, J.T.N., Bruckmaier, R.M., Hopster, H., Engel, B., Noordhuizen, J.P.T.M. & Blokhuis, H.J. (2002). Individual differences in behavioral and physiological responsiveness of primiparous dairy cows to machine milking. *Journal of Dairy Science*, 85, 2551-2561.

- Van Doormaal, B. J., F. Miglior, G. Kistemaker, and P. Brand (2005). Genetic diversification of the Holstein breed in Canada and internationally. *In Interbull Bulletin*, 33:93-97
- VanDorp, T.E., Dekkers, J.C.M., Martin, S.W., & Noordhuizen, J.P.T.M. (1996). Genetic Parameters of Health Disorders, and Relationships with 305-Day Milk Yield and Conformation Traits of Registered Holstein Cows. *In Journal of Dairy Science* 81, 2264-2270.
- VanRanden, P.M. & Sanders, A. H. (2003). Economic merit of crossbred and purebred US dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 86, 1036, 1044.
- Vasconcelos, J., Martins, A., Ferreira, A., Pinto, S. & Carvalheira J. (2005). Inbreeding and inbreeding depression in portuguese dairy cattle. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 100, 33-38.
- Viking Genetics (2010a). *Explanation of the figures: Nordic total merit*. Acedido em Abr. 22, 2011, disponível em: <http://www.vikinggenetics.com/en/svavel/explain.asp>
- Viking Genetics (2010b). *Breed statistics Swedish Red*. Acedido em Abr. 22, 2011. Disponível em <http://www.vikinggenetics.com/en/svavel/statistics.asp?ras=1>
- Voyvoda, H., Erdogan, H., (2010). Use of a hand-held meter for detecting subclinical ketosis in dairy cows. *Research in Veterinary Science*, 89, 344-351.
- Vries, A., Overton, M., Fetrow, J., Leslie, K., Eicker, S. & Rogers, G. (2008). Exploring the impact of sexed semen on the structure of dairy industry [Abstract]. *Journal of Dairy Science*, 91-2: 847-856.
- Vries, A.,(2008). *Sexed semen economics*. In Milk production library. Acedido a Mar., 8, 2011. Disponível em: <http://www.milkproduction.com/Library/Scientific-articles/Reproduction/Sexed-semen-economics/>
- Waiblinger, S., Menke, C. & Coleman, G., (2002). The relationship between attitudes, personal characteristics and behaviour of stockpeople and subsequent behaviour and production of dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science* 79, 125-219.
- Waiblinger, S., Menke, C. & Folsch D.W., (2003). Influences on the avoidance and approach behaviour of dairy cows towards humans on 35 farms. *Applied Animal Behaviour Science* 84, 23-39.
- Walsh, S., Buckley F. , Berry, D.P. , Rath, M., K. Pierce, M.K., Byrne L. & Dillon, P. (2007). Effects of Breed, Feeding System, and Parity on Udder Health and Milking Characteristics. [Abstract] *Journal of Dairy Science*, 90 (12), 5757-5777
- Weaver L. D., (1992). Reproductive Health Programs. In H.H. Van Horn, and C.J. Wilcox (1992), *Large Dairy Herd Management*. (1<sup>st</sup> ed.). American Dairy Science Association: U.S.A.

Weigel, K.A., (2010). *Impact of Genetic Selection on Female Fertility*. Acedido em Fev. 28, 2011, disponível em [http://www.extension.org/pages/Impact of Genetic Selection on Female Fertility](http://www.extension.org/pages/Impact_of_Genetic_Selection_on_Female_Fertility)

Wenzel, C., Schonreiter-Fischer, J. & Unshelm C. L., Studies on step-kick behaviour and stress of cows during milking in an automatic milking system. *Livestock Production Science* . 83:237-246.

Wenzel, C., Schonreiter-Fischer, S. & Unshelm, J. (2003). Studies on step-kick behaviour and stress of cows during milking in an automatic milking system. *Livestock Production Science*. 83, 237-246.

Wiggans, G.R. & VanRendem, P.M. (1995). Calculation and use of inbreeding coefficients for genetic evaluation of United States dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 78, 1584-1590.

Wilcox, C.J., Webb, D.W. & DeLorenza, M.A. (1992). *Genetic improvement of dairy cattle*. IFAS Extension, University of Florida, DS75. Acedido a Mar. 8, 2011. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/DS/DS09400.pdf>


Xu, J., Chaubal, S.A. & Du, F., (2009). Optimizing IVF with sexed sperm in cattle. *Theriogenology*. 71: 39- 47

Young, C. W. & Seykora, J. (1996). Estimates of Inbreeding and Relationship Among registered Holstein Females in the United States. *Journal of Animal Science*, 79, 503-505.

## V – ANEXOS

1. Demonstração de avaliação de touro com elevado número de filhas e consequente elevada repetibilidade (\*) e registo do temperamento e características de ordenha (\*\*) (fonte: Bullsemen.com).

Tabela 14. Classificação genética touro "Alliance"

 <b>BULLSEMEN.COM</b> Inimex Genetics Ltd		
<b>ALLIANCE - Sire Data Sheet</b>		
<b>ALLIANCE</b>		
Source: GGI - Apr 2011		
HB No: 72019500315866		
DOB: 14-05-2002		
FH: 3799		
Breed: Holstein		
<ul style="list-style-type: none"> <li>+ 3.14 UK Type Merit</li> <li>+ 2.93 Mammary</li> <li>+ 2.47 Foot Angle</li> <li>+ 2.69 Fore Udder Att</li> <li>Famous Comestar Laurie Sheik Family</li> <li>Kappa-casein code AA</li> </ul>		
<b>Pedigree</b>		
Canyon-		
Sire: Breeze MGS: Comestar Lee		
Allen		
<b>Management Traits</b>		<b>PTA Apr - MDC</b>
Calving Ease	Not for heifers	<b>kg %</b>
Milking Speed	Normal**	Milk 177
Temperament	Calm**	Fat 3.7 -0.04
Cell Count	-11 (very good)	Protein 3.9 -0.02
Lifespan	0.2	<b>Reliability 99% *</b>
		<b>Dtrs/herds 1096 / 609*</b>

## 2. Avaliação comportamental - Ordenha

Tabela 15. Tabela de avaliação de comportamental na ordenha

Nº Vaca	Data de parto(D0)	Dia pós parto (DX)	Produção (L)	Tempo (Min:Seg)	Pontapés (nº)	Passos (nº)

Figura 12. Sala de ordenha - Casal de Quintanelas (fotografia original do autor).

